



**UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA**

**FACULTAD DE VETERINARIA**

**TESIS DOCTORAL**

**Aproximación al empleo de microalgas marinas en la producción  
de rumiantes neonatos; repercusiones sobre la inmunidad y la  
calidad de los productos.**

**Isabel Moreno Indias**

**Las Palmas de Gran Canaria, septiembre 2011**

## **Anexo II**

### **UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA**

Departamento: Instituto Universitario de Sanidad Animal y Seguridad Alimentaria

Programa de Doctorado: Sanidad Animal

#### **Título de la Tesis**

**“Aproximación al empleo de microalgas marinas en la producción de rumiantes neonatos; repercusiones sobre la inmunidad y la calidad de los productos”.**

Tesis Doctoral presentada por **Doña Isabel Moreno Indias**

Dirigida por el **Dr. D. Anastasio Argüello Henríquez**

**El Director,**



**La Doctoranda,**



Las Palmas de Gran Canaria, a 15 de junio de 2011

ANASTASIO ARGÜELLO HENRÍQUEZ, PROFESOR TITULAR DE UNIVERSIDAD EN EL DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA ANIMAL, PRODUCCIÓN ANIMAL, BROMATOLOGÍA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS DE LA FACULTAD DE VETERINARIA DE LA UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA

**INFORMA:**

Que Isabel Moreno Indias, Licenciada en Biología y en Ciencia y Tecnología de los Alimentos, ha realizado bajo mi dirección y asesoramiento el presente trabajo titulado **“Aproximación al empleo de microalgas marinas en la producción de rumiantes neonatos; repercusiones sobre la inmunidad y la calidad de los productos”** considerando que reúne las condiciones y calidad científica para optar al grado de Doctor en Veterinaria.

Las Palmas de Gran Canaria, Junio 2011



**Fdo. Anastasio Argüello Henríquez**



## **Agradecimientos**

Bueno, pues aquí me tenéis escribiendo los tan temidos agradecimientos, qué diré, cómo, ¡que no se me olvide nadie!, así llevo varios días intentando ponerme con ellos, y hoy que tengo un día de esos tontos, he decidido por lo menos empezar.

No sé por donde comenzar, son tantas cosas, tanta gente a la que agradecer que esto se esté convirtiendo en realidad que por dónde empiezo. Así que voy a hacer caso a Tamara que me dijo, pues cuenta un poco tu vida, así que eso voy a hacer (para que luego digas que no te hago caso).

Nunca he sabido muy bien a lo que dedicarme, pero parece que siempre me había inclinado por las matemáticas, hasta que un buen día por el bachillerato cuando ya me había olvidado de los números en matemáticas y parecía más lengua que otra cosa, se me cruzó un yogur por el camino, ¿por qué no decidirme por los alimentos?, así mirando carreras, decidí hacer Ciencia y Tecnología de los Alimentos, pero como tratándose de mí, no podía ser tan fácil, tuve que elegir otra carrera para poder acceder a la que quería, y así llegué a Biología, en la especialidad de Biotecnología porque tenía una asignatura que se llamaba Microbiología de los alimentos, nada más y nada menos. Durante Biología, tenía clara una cosa: quería trabajar en la industria, no quería hacer tesis (¿por qué no mantendré la boca cerrada?). Así, después de Biología (la cual no tenía previsto terminar, pero que no pude dejar y continué) por fin llegué a CyTA que es como todos (los que estudiábamos en la UCM) conocíamos a Ciencia y Tecnología de los Alimentos, me encantó.



## Agradecimientos

Pero claro, llegó el abismo, ya no iba a continuar estudiando, así que llegó la hora de buscar trabajo. Tuve suerte la verdad, y lo encontré en seguida, como tutora telefónica de los cursos de manipulación de alimentos (y bueno, también de biología celular, biología molecular, biotecnología, inglés, informática,...). La experiencia no fue muy buena, así que Josué me animó a probar a pedir becas, y hacer, ¡¡la tesis!! (Quién iba a pensar que terminaríamos siendo coautores). Todavía recuerdo el día en el que Tacho me llamó para decirme que si quería la beca, era mía (él se acuerda de mí de unos e-mails previos, pero no voy a entrar en detalles). Y así, me mudé a Canarias y entré en contacto con ese maravilloso animal, la cabra, y bueno, los baifos (¿pero qué es un baifo?, Antonio no te rías), y con los alimentos desde otro punto de vista, desde el punto en el que están vivos. Y bueno, además de las cabras, pues conocí a “los canarios”, mi nueva familia, con la que he pasado tantos momentos, buenos y malos, pero geniales.

Y ahora que ya hemos entrado en contexto, comienzan realmente los agradecimientos. Aunque pueda ser políticamente incorrecto, lo siento, tengo que empezar por mis padres, que sin ellos no hubiese conseguido absolutamente nada de lo que tengo, anteponiendo siempre mis cosas a las suyas. Muchas gracias mamá por todos esos años llevándome la cartera, aguantándome en épocas de exámenes (con lo insoportable que me ponía) y en fin por todo, por enseñarme a moverme por la vida. Papá, muchas gracias por creer siempre en mí (“si llega tarde, sus motivos tendrá”), por pasarte los veranos enseñándome lo que tenía que aprender al año siguiente y por todos esos libros y películas que compartimos. Pero sobre todo gracias a los dos por esa educación que me habéis dado desde pequeña “el trabajo de papá es traer el dinero a casa, el trabajo de mamá es cuidarte a ti y a la casa, y tu trabajo es estudiar”.

## **Agradecimientos**

Ahora Tacho, ya podemos ponernos contigo. Gracias por darme esta oportunidad, por creer en mí desde el primer momento aunque fuese una completa desconocida, por enseñarme todo porque no sabía nada, por buscar soluciones a todos mis problemas, tanto profesionales como personales. Por entenderme. Por confiar en mí, cuando ni yo misma lo hacía. Gracias Noemí, por ser omnipresente, por estar siempre en todo y por enseñarme lo que es una granja, y sobre todo por ser de las pocas personas que saben cómo soy y me entienden. Gracias Capote, por brindarme tu amistad, tus conocimientos y hasta tu casa.

Y seguimos con el grupo de los canarios. Gracias Antonio por toda tu ayuda, siempre estabas ahí cuando te necesitaba, hablando tanto del tema personal como profesional, pero muchas gracias por esas horas interminables en las que arreglábamos el mundo, caprino por supuesto, porque todo en tu vida gira alrededor de las cabras, por algo te llaman “baifo”. A Lorenzo, uff, el resumen es: pon un Lorenzo en tu vida. Gracias por ser como eres y por todos esos momentos que hemos pasado juntos comiéndome la cabeza con no sé cuántas cosas que sólo a ti se te pueden ocurrir y que sólo te pueden pasar a ti, y sí, las ovejas son majas también, y los corderos achuchables. A Davinia, la otra bióloga, la de los quesos a la que no le gustaba el queso, la de los dolores y una parte fundamental en el laboratorio, como ya pudimos apreciar en tus andanzas americanas. Gracias por preocuparte por mí durante mis estancias. A Alexandr, nuestro venezolano, el ingeniero químico que ordeña, el que siempre se raja en el último minuto y el que busca la vena porque rebota, muchas gracias. A Loli, mi doble, que aunque nos has abandonado, pasamos muy buenos ratos, muchas gracias por tu ayuda y por esas ganas de fiesta que casi acaban conmigo. La última en llegar, la que viene en tacones y luego se pone las botas, Vanesa, muchas gracias a ti también. Y

## **Agradecimientos**

Paula Paola, gracias por esas risas que nos echamos sacando sangre al conejo de plástico. A Conchi, que decidió cambiarnos por tierras chicharreras. Y no me quiero olvidar de alguien que influyó mucho en mi vida, aunque sólo coincidiéramos un tiempo, muchas gracias Claudia por tu sabiduría y por buscar siempre la mejor solución a todo.

Y a los demás canarios de la facul. A los operarios: Luis, Juan, Serafín, Rosario, Antonio, Pino, Bernardo, Pepa, por toda esa ayuda, esas charlas interminables, y esas peleas sin sentido. A Ventura, por todos los tubos lavados (que han sido muuuchos). Y a nuestros compañeros de Repro, con los que la Granja era una entidad propia, a Melani por su ayuda en los partos y por esos años que pasamos como hermanas. A Tara, siempre tan dispuesta y a Rober, ¿pero dónde está Rober?, y a Miguel y a Desi por esas cenas de navidad. Gracias Irma y Yoli por hacerme más fácil la burocracia. Gracias a aquéllos que habéis hecho posible la tesis: gracias Rafa por esa sala de cata, gracias a nuestro panel de catadores semi-entrenado, gracias al personal del ITC, y en especial a Patricia, por esos ácidos grasos que siempre se necesitaban para ayer, y que los datos se perdían una y otra vez. A la gente del Pico, por tratarme tan bien en mi estancia allí.

I'd like to include here to Dr. Sim, Bob, thank you so much for your help, for your comprehension when I looked at you with face of not understanding anything, and for all the knowledge. Thanks to Oxford University and the staff of the lab of E Sim and RB Sim. And thanks to all the people of Upenn that here in Philly ask me for my thesis, y a los españoles y en especial a Alicia.

Gracias a mi familia, a Mari y Pedro, por quererme como una hija y por darme siempre su apoyo en todo. Gracias a mis tíos Toñi y Rafa, que siempre están ahí para



## **Agradecimientos**

preguntar “¿y cuándo te volvemos a ver?”. Gracias a mis primas y sus respectivos, y a mis sobris por darme fuerzas.

Y ahora el turno de los biolocos. Chicos, sois muy grandes. Gracias a todos por apoyarme siempre, aún cuando me mirabais como si estuviese loca al irme a Canarias para trabajar con cabras. Muchas gracias Marta por estar siempre en el Messenger para decirme algo, has sido mi compañera de sufrimientos, la que mejor me comprendía y la

que siempre tenía un abrazo para sentirme mejor. Ricardo, por estar siempre de estancia a la vez que y por ser tú, Rubén (el pajarero) por esos consejos de todo, Fátima una de las personas más entregadas que conozco, Ana María nuestra pequeña histérica, Miriam últimamente la fiestera, Bea siempre dispuesta, Antonio nuestro hombrecillo, por esos paseos interminables por Madrid intentando salir en algún sitio, Pedro, Quique, por esas discusiones que tenéis de ciencia (yo suelo observar), y bueno, a las ovejas descarriadas, Juanma y Nebreda, que fuisteis muy importantes para mí durante la carrera y a la oveja descarriadísima, Elvira, la eterna veterinaria. Pero, ya lo sabéis mi bioloca favorita no es otra que Tamara, la chica de la botella del licor de melocotón, la que ha compartido conmigo todas las situaciones más surrealistas del mundo, la mejor de las mejores, aunque me ponga nerviosa porque no sabe hacer una maleta, esas maletas que ha hecho para estar conmigo allí donde voy.

Gracias a mis chicas de CyTA: Bea, Monika, Silvia y Eva, muchas gracias chicas por ser como sois y por estar siempre ahí aunque no nos veamos, por todos esos grandes momentos que pasamos siendo las raras, las que no se quejaban por nada, y sobre todo, ¡por las tortitas!

Y bueno, a mi gente, a los del Alcorbrón: Ana, mi compañera de andanzas en la distancia, Bari (que sí que existe) y que para mí siempre está ahí, Jaime el que siempre dice las cosas como son y la Auro, mi compi desde que éramos unas quinajas y que tras años sin vernos, seguimos estando ahí. Y a mi gente del pueblo, por comprender que no aparezca por allí en todo este tiempo: las Julias (tanto la Picón como la Burgui), M<sup>a</sup> José (la Largui), Puri, M<sup>a</sup> Luisa y M<sup>a</sup> Ángeles. Y no podía olvidar a los segovianos: Jose, Sergio, Nata, Iñaki, gracias.

Y para terminar, el más importante, el que me guía por la vida y me hace continuar, el que me da fuerzas con una simple mirada, mi compañero, mi amigo, mi

## **Agradecimientos**

amor, y mi todo. Muchas gracias Josué porque si ahora mismo he escrito esta tesis es por ti, por ti empecé el doctorado, por ti terminé las dos carreras y por ti soy lo que soy, o mejor dicho, somos.

Sé que ya había dicho para terminar, pero como sé que se me olvida alguien, esta tesis me ha hecho perder las pocas neuronas que tengo y unos cuantos años de vida, tengo que dar las gracias a todo el mundo en general y que no se preocupe nadie si no le he incluido, que si le hablo, seguro que es importante para mí. Y ahora sí que sí, para terminar, agradecerle a todo los baifitos lo que han hecho, esos momentos que pasamos juntos, mirándoles, acariciándoles, atacándome intentando mamar de cualquier parte, y lo siento, pero siempre hay preferidos en todas las familias, gracias Barbarito por ponerme la cabeza en el hombro y gracias 23, la cabra más inteligente de todo el corral.

**Contenido**

<b>1. Resumen .....</b>	<b>7</b>
<b>2. Summary .....</b>	<b>11</b>
<b>4. Objetivos. ....</b>	<b>15</b>
<b>4. Introducción divulgativa .....</b>	<b>16</b>
<b>4.1. El sector caprino .....</b>	<b>16</b>
<b>4.2. Lactancia artificial .....</b>	<b>18</b>
<b>4.3. Lactorreemplazantes .....</b>	<b>19</b>
<b>4.3.1. Lactosuero .....</b>	<b>19</b>
<b>4.3.2. Leche de vaca .....</b>	<b>21</b>
<b>4.3.3. Proteínas .....</b>	<b>22</b>
<b>4.3.4. Grasas .....</b>	<b>23</b>
<b>4.3.5. Otros ingredientes adicionales.....</b>	<b>24</b>
<b>4.3.6. Condiciones de los lactorreemplazantes .....</b>	<b>25</b>
<b>4.4. La nueva era de la alimentación animal .....</b>	<b>25</b>
<b>4.4.1. Ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) .....</b>	<b>26</b>
<b>4.4.1.1. Omega-6 PUFA .....</b>	<b>26</b>
<b>4.4.1.1.1. Ácido linoleico conjugado (CLA) .....</b>	<b>27</b>
<b>4.4.1.1.2. Omega-3 PUFA .....</b>	<b>28</b>
<b>4.4.1.2.1. Ácido docosahexaenoico (DHA) .....</b>	<b>29</b>
<b>4.4.2. Indicadores de la calidad de la dieta.....</b>	<b>31</b>
<b>4.4.2.1. Ratio omega-6/omega-3 .....</b>	<b>31</b>
<b>4.4.2.2. Índice de aterogenicidad (IA) .....</b>	<b>32</b>
<b>4.4.3. Fortificación de alimentos con ácidos poliinsaturados omega-3. ....</b>	<b>33</b>
<b>4.5. Crecimiento .....</b>	<b>35</b>
<b>4.5.1. Factores que afectan al crecimiento.....</b>	<b>36</b>
<b>4.5.1.1. Tipo de parto y peso al nacimiento.....</b>	<b>36</b>
<b>4.5.1.2. Genotipo.....</b>	<b>37</b>
<b>4.5.1.3. Edad .....</b>	<b>37</b>
<b>4.5.1.4. Sexo .....</b>	<b>37</b>
<b>4.5.1.5. Alimentación.....</b>	<b>38</b>
<b>4.5.1.6. Concentración del lactorreemplazante .....</b>	<b>39</b>

<b>4.6. Calidad de la canal.....</b>	<b>41</b>
<b>4.6.1. Peso y rendimiento canal .....</b>	<b>42</b>
<b>4.6.1.1. Factores de variación del peso y rendimiento canal .....</b>	<b>42</b>
<b>4.6.1.1.1. Genotipo.....</b>	<b>42</b>
<b>4.6.1.1.2. Edad y peso al sacrificio .....</b>	<b>43</b>
<b>4.6.1.1.3. Sexo .....</b>	<b>43</b>
<b>4.6.1.1.4. Alimentación.....</b>	<b>44</b>
<b>4.6.2. Conformación de la canal .....</b>	<b>44</b>
<b>4.6.2.1. Factores de variación de la conformación de la canal:.....</b>	<b>46</b>
<b>4.6.2.1.1. Genotipo.....</b>	<b>46</b>
<b>4.6.2.1.2. Edad y peso al sacrificio .....</b>	<b>47</b>
<b>4.6.2.1.3. Sexo .....</b>	<b>47</b>
<b>4.6.2.1.4. Alimentación.....</b>	<b>47</b>
<b>4.6.3. Composición anatómica o regional de la canal.....</b>	<b>48</b>
<b>4.6.3.1. Factores de variación de la composición anatómica o regional de la canal</b>	<b>48</b>
<b>4.6.3.1.1. Edad y peso al sacrificio .....</b>	<b>48</b>
<b>4.6.3.1.2. Sexo .....</b>	<b>49</b>
<b>4.6.3.1.3. Alimentación.....</b>	<b>49</b>
<b>4.6.4. Composición tisular .....</b>	<b>50</b>
<b>4.6.4.1. Factores de variación de la composición tisular .....</b>	<b>50</b>
<b>4.6.4.1.1. Edad y peso al sacrificio .....</b>	<b>50</b>
<b>4.6.4.1.2. Sexo .....</b>	<b>51</b>
<b>4.6.4.1.3. Alimentación.....</b>	<b>51</b>
<b>4.7. Calidad de la carne .....</b>	<b>52</b>
<b>4.7.1. Conversión de músculo en carne.....</b>	<b>52</b>
<b>4.7.2. pH.....</b>	<b>52</b>
<b>4.7.2.1. Factores de variación del pH .....</b>	<b>53</b>
<b>4.7.2.1.1. Genotipo.....</b>	<b>53</b>
<b>4.7.2.1.2. Edad y peso al sacrificio .....</b>	<b>54</b>
<b>4.7.2.1.3. Sexo .....</b>	<b>54</b>
<b>4.7.2.1.4. Alimentación.....</b>	<b>55</b>
<b>4.7.2.1.5. Estrés.....</b>	<b>55</b>
<b>4.7.3. Capacidad de retención de agua (CRA) y pérdidas de líquido. ....</b>	<b>56</b>

<b>4.7.3.1. Factores de variación de la CRA .....</b>	<b>56</b>
<b>4.7.3.1.1. Genotipo.....</b>	<b>56</b>
<b>4.7.3.1.2. Edad y peso al sacrificio .....</b>	<b>57</b>
<b>4.7.3.1.3. Sexo .....</b>	<b>57</b>
<b>4.7.3.1.4. Alimentación.....</b>	<b>58</b>
<b>4.7.3.1.5. Músculo.....</b>	<b>58</b>
<b>4.7.3.1.6. pH.....</b>	<b>58</b>
<b>4.7.4. Pérdidas por cocinado.....</b>	<b>59</b>
<b>4.7.4.1. Factores que influyen en las pérdidas por cocinado.....</b>	<b>59</b>
<b>4.7.4.1.1. Genotipo.....</b>	<b>59</b>
<b>4.7.4.1.2. Sexo .....</b>	<b>59</b>
<b>4.7.4.1.3. Alimentación.....</b>	<b>60</b>
<b>4.7.5. Color instrumental .....</b>	<b>60</b>
<b>4.7.5.1. Factores de variación del color instrumental.....</b>	<b>61</b>
<b>4.7.5.1.1. Genotipo.....</b>	<b>61</b>
<b>4.7.5.1.2. Edad y peso al sacrificio .....</b>	<b>62</b>
<b>4.7.5.1.3. Sexo .....</b>	<b>62</b>
<b>4.7.5.1.4. Alimentación.....</b>	<b>63</b>
<b>4.7.5.1.5. Músculo.....</b>	<b>63</b>
<b>4.7.5.1.6. pH.....</b>	<b>64</b>
<b>4.7.6. Terneza .....</b>	<b>64</b>
<b>4.7.6.1. Factores de variación que afectan a la terneza .....</b>	<b>64</b>
<b>4.7.6.1.1. Genotipo.....</b>	<b>64</b>
<b>4.7.6.1.2. Edad y peso al sacrificio .....</b>	<b>65</b>
<b>4.7.6.1.3. Sexo .....</b>	<b>65</b>
<b>4.7.6.1.4. Alimentación.....</b>	<b>65</b>
<b>4.7.6.1.5. Electro-estimulación .....</b>	<b>66</b>
<b>4.7.7. Composición química .....</b>	<b>66</b>
<b>4.7.7.1. Humedad.....</b>	<b>66</b>
<b>4.7.7.2. Proteína.....</b>	<b>67</b>
<b>4.7.7.3. Cenizas .....</b>	<b>67</b>
<b>4.7.7.4. Grasa intramuscular.....</b>	<b>67</b>
<b>4.7.7.5. Colágeno .....</b>	<b>68</b>

4.7.7.6.	Factores de variación que afectan a la composición química .....	68
4.7.7.6.1.	Genotipo.....	68
4.7.7.6.2.	Edad y peso al sacrificio .....	68
4.7.7.6.3.	Sexo .....	69
4.7.7.6.4.	Alimentación.....	69
4.7.8.	Perfil de ácidos grasos .....	70
4.7.8.1.	Factores de variación que afectan al perfil de ácidos grasos .....	70
4.7.8.1.1.	Genotipo.....	70
4.7.8.1.2.	Sexo .....	70
4.7.8.1.3.	Alimentación.....	71
4.7.9.	Análisis sensorial .....	72
4.7.9.1.	Factores de variación que afectan al análisis sensorial .....	72
4.7.9.1.1.	Genotipo.....	72
4.7.9.1.2.	Edad y peso al sacrificio .....	72
4.7.9.1.3.	Sexo .....	73
4.7.9.1.4.	Alimentación.....	73
4.8.	Estado inmune.....	74
4.8.1.	Inmunoglobulinas .....	74
4.8.1.1.	Inmunoglobulina G (IgG) .....	75
4.8.1.2.	Inmunoglobulina M (IgM) .....	75
4.8.1.3.	Inmunoglobulina A (IgA).....	76
4.8.1.4.	Otras inmunoglobulinas .....	76
4.8.1.5.	Transferencia de inmunidad pasiva.....	76
4.8.1.6.	Comienzo de la síntesis endógena de inmunoglobulinas .....	77
4.8.1.7.	Factores de variación que afectan la concentración de inmunoglobulinas .....	78
4.8.1.7.1.	Encalostrado.....	78
4.8.1.7.2.	Sexo .....	78
4.8.1.7.3.	Alimentación.....	79
4.8.2.	Actividad del sistema de complemento.....	79
4.8.2.2.	Factores de variación de la actividad del sistema de complemento	83
4.8.2.2.1.	Edad .....	83
4.8.2.2.2.	Alimentación.....	84
4.8.3.	Actividad de la chitotriosidasa .....	84

4.8.3.1.	Actividad de la chitotriosidasa en animales de producción .....	85
4.8.3.1.1.	Factores de variación que afectan a la actividad de la chitotriosidasa.....	85
4.8.3.1.1.1.	Edad y estado fisiológico.....	85
4.8.3.1.1.2.	Alimentación .....	86
5.	Planteamiento y Metodología.....	87
5.1.	Capítulo 1.....	87
5.1.1.	Planteamiento .....	87
5.1.2.	Metodología.....	88
5.2.	Capítulo 2.....	89
5.2.1.	Planteamiento .....	89
5.2.2.	Metodología.....	89
5.3.	Capítulo 3.....	92
5.3.1.	Planteamiento .....	92
5.3.2.	Metodología.....	93
5.4.	Capítulo 4.....	95
5.4.1.	Planteamiento .....	95
5.4.2.	Metodología.....	96
5.5.	Capítulo 5.....	97
5.5.1.	Planteamiento .....	97
5.5.2.	Metodología.....	97
6.	Bibliografía .....	100
7.	CAPÍTULO 1.....	142
	Farm and factory production of goat cheese whey results in distinct chemical composition .....	142
8.	CAPÍTULO 2.....	148
	The Complement System of the Goat: haemolytic assays and isolation of major proteins .....	148
9.	CAPÍTULO 3.....	181
	Effects of micro-seaweed DHA Supplementation on Growth, Carcass and Meat Qualities, Fatty Acid Composition and Immune Status of Goat Kids.....	181
10.	CAPÍTULO 4.....	218
	Using DHA in goat kid rearing; effects on immune system and meat quality.....	218
11.	CAPÍTULO 5.....	252



**Contenido**

**The effect of omega-3 polyunsaturated fatty acid addition to milk replacer on the sensory quality of goat kid meat..... 252**

**12. Conclusiones..... 276**

**13. Conclusions ..... 278**

### **1. Resumen**

El ganado caprino es un sector fuertemente arraigado a varias zonas de España, entre las que se encuentra Canarias, estando principalmente orientado hacia la explotación lechera para su transformación en queso y productos lácteos. Así, se hace indispensable la utilización de la lactancia artificial en la cría de los cabritos, especie en la que aún no está muy desarrollada esta práctica, al contrario que en el vacuno o en el ovino.

Son muchos los lactorreemplazantes comerciales que se pueden encontrar en el mercado los cuales están formulados específicamente para cada especie y están basados principalmente en leche de vaca, cereales y grasa vegetal. Sin embargo, muchos han sido los esfuerzos puestos en encontrar otros ingredientes más baratos, encontrando en el lactosuero una buena materia prima debido a su composición. Sin embargo, se ha visto que esta composición se ve influenciada por su origen. Así, se analizaron 60 muestras de lactosuero provenientes de queserías artesanales y 20 de queserías industriales del Archipiélago Canario, encontrándose que aquellos lactosueros producidos en las queserías industriales presentaban un contenido en materia seca y en grasa mayor que el de las queserías industriales, al igual que ocurría con respecto a las concentraciones de lactoferrina y de albúmina sérica caprina. Sin embargo, el perfil de ácidos grasos no se vio afectado.

Por otro lado, un conocimiento más profundo del sistema inmune caprino, es necesario. Una parte muy importante del sistema inmune es el sistema del complemento, el cual engloba a todos los demás sistemas inmunitarios funcionando como una red. Poco se conoce acerca del sistema de complemento caprino, por lo que se hace indispensable su estudio. Así, para comprender un poco más este sistema, por un lado, se desarrolló una técnica hemolítica para medir su actividad, para lo cual hubo que

## **Resumen**

encontrar los eritrocitos que se utilizarían en los ensayos, encontrando en los eritrocitos humanos una buena opción y consiguiendo unos mejores resultados al sensibilizar estos eritrocitos humanos con anticuerpos de conejo, además de desarrollar un buffer que fuera capaz de medir la actividad y de fácil disponibilidad, obteniendo buenos resultados con el llamado DGHB++, el cual posee en su formulación HEPES en vez del veronal normalmente utilizado en estos ensayos. Por otro lado, con el fin de profundizar más en el conocimiento del sistema de complemento caprino, se aislaron tres proteínas mayoritarias de este sistema de complemento: el factor H, C1q y C3, observando que son muy semejantes a las de humano.

Por otro lado, actualmente se están desarrollando una gran cantidad de productos enriquecidos con ácidos grasos poliinsaturados omega-3 debido a las recomendaciones que se han lanzado desde los principales organismos de salud mundiales. Así, los productos cárnicos han sido uno de los principales alimentos en los que se ha probado esta fortificación, basados en el hecho de que la composición de ácidos grasos de la dieta va a ser un factor determinante en la composición de los ácidos grasos del músculo y de los tejidos adiposos de los animales prerrumiantes. Asimismo, hay evidencias de que el consumo de estos ácidos grasos poliinsaturados por parte de los cabritos, mejoran el crecimiento y la calidad de la canal y de la carne, así como el estado inmune del animal. Así, se desarrolló el siguiente experimento, en el que se dividieron 30 cabritos en tres grupos diferenciados por sus dietas: un primer grupo alimentado con un lactorreemplazante comercial, y otros dos grupos en los que se le adicionó a este lactorreemplazante un producto rico en DHA, uno a baja concentración (9 g/l) y otro a alta concentración (18 g/l), y se midieron parámetros concernientes al crecimiento, conformación y calidad de la canal y de la carne por un lado y del estado inmune por otro. Si bien, no se encontraron diferencias debidas a la dieta en la mayoría de los

parámetros estudiados, a excepción del perfil de ácidos grasos, los cuales fueron desarrollados en la grasa intramuscular, perirrenal, pélvica, subcutánea e intermuscular, en donde se observó que aquellos animales suplementados con DHA veían aumentadas las concentraciones de este ácido graso en sus tejidos de una manera dosis-dependiente, mejorando el ratio omega-6/omega-3 que tan importante es para la salud. En cuanto a los parámetros medidos del estado inmune (IgG, IgM, actividad del complemento y actividad de la chitotriosidasa), tampoco se encontró ninguna diferencia atribuida a la dieta. Estos resultados nos llevan a concluir que la adición de ácidos grasos poliinsaturados omega-3 se justifica como medida para mejorar los perfiles de ácidos grasos, pero no para el resto de parámetros.

Continuando con el tema central, aunque la leche de vaca es un componente esencial en todos los lactorreemplazantes y por otro lado, el alimentar con leche de vaca a los cabritos es una práctica habitual entre los ganaderos, poca ha sido la atención que se le ha puesto a este producto desde una aproximación científica, por lo que se hace necesario su estudio en relación con el crecimiento, la calidad de la canal y de la carne y del estado del animal alimentado con este producto. Si bien, dentro de la tónica de la presente tesis, se desarrolló un experimento en el que además se probaba el uso de la fortificación con DHA. Así, tres grupos experimentales fueron propuestos: uno control alimentado a base de leche de cabra, uno segundo al que se alimentó con leche de vaca entera en polvo con una concentración del 16% y un tercer grupo al que se le adiciono una concentración del 0,9% (p/p) de DHA a la leche de vaca en polvo con la misma cantidad de materia seca final del 16%. Se midieron parámetros relativos al crecimiento, calidad de la canal y de la carne, así como otros referentes al sistema inmune del animal: IgG, IgM, actividad del complemento y la chitotriosidasa. No se encontraron diferencias en los parámetros relativos al crecimiento y calidad de la canal y de la carne,

si bien de nuevo se encontraron diferencias en cuanto al perfil de ácidos grasos, volviéndose a poner de manifiesto que la adición de ácidos grasos omega-3 en la dieta del animal, enriquece en este ácido graso los tejidos del animal. En cuanto a los parámetros inmunes, tampoco se observó ningún efecto.

Si bien, aunque la mejora de la calidad nutritiva de las carnes suplementadas con DHA es patente, esto no tendría sentido sin una buena percepción sensorial por parte del consumidor. Muchos son los trabajos estudiando los perfiles de ácidos grasos de las carnes suplementadas con ácidos grasos omega-3, pero pocos han puesto la atención necesaria sobre la calidad sensorial de dichas carnes, así carnes pertenecientes a cabritos alimentados con leche de cabra, lactorreemplazante, leche de vaca entera en polvo, lactorreemplazante suplementado con una dosis baja de DHA, lactorreemplazante suplementado con una dosis alta de DHA y leche de vaca entera en polvo suplementada con una dosis baja de DHA, fueron evaluadas descriptivamente por un panel de nueve catadores semientrenados, así como por una prueba triangular realizada por consumidores habituales de carne de cabrito, encontrándose que las altas dosis de ácidos grasos poliinsaturados omega-3 producen carnes con olores extraños, sabores rancios y a hígado, y una baja puntuación en la apreciación global, pero que sin embargo las carnes suplementadas con una baja dosis de DHA mantienen la percepción sensorial positiva.

### **2. Summary**

The caprine sector is deeply rooted in several areas of Spain, including Canary Islands, being mainly oriented towards milk for processing into cheese and dairy products. Thus, it is essential to use artificial rearing in the breeding of goats, specie in which it is not yet developed this practice, unlike in cattle or sheep.

Many commercial milk replacers can be found in the market which are specially formulated for each species and are mainly based on cow's milk, cereals and vegetable fat. However, many efforts have been made to find other cheaper ingredients, finding a good feedstock in whey due to its composition. However, we have seen that this composition is influenced by its origin. Thus, we analyzed 60 samples of whey from cheese-making farms and 20 cheese factories from the Canary Islands, found that those produced in farms had a higher dry matter content and fat than the cheese factories, as occurred with respect to the concentrations of lactoferrin and goat serum albumin. However, the fatty acid profile was not affected.

On the other hand, a deeper understanding of goat immune system is necessary. A very important part of the immune system is the complement system, which encompasses all other immune system function as a network. Little is known about the goat complement system, so its study is essential. Thus, in order to understand a little more this system, on the one hand, a technique was developed to measure haemolytic activity, for which we had to find the erythrocytes to be used in assays, finding in human erythrocytes a good choice and getting better results sensitizing with rabbit antibodies; and then, developing a buffer that was capable to measure the activity and easily available, obtaining good results with the buffer called DGHB++, which includes in its formulation HEPES instead of the drug veronal, normally used in these trials. Moreover, to go deeper into the knowledge of the goat complement system, we isolated

## **Summary**

three major proteins of the complement system: Factor H, C1q and C3, noting that they are very similar to those from humans.

A large number of products enriched with polyunsaturated fatty acids omega-3 are being developed because the recommendations launched from the major health agencies worldwide. Thus, meat products have been one of the main foods that have been tested this fortification, based on the fact that the composition of dietary fatty acids will be a factor in the fatty acid composition of muscle and fatty tissues of pre-ruminant animals. There is also evidence that consumption of polyunsaturated fatty acids by the kids, improves growth and carcass quality and meat, as well as the immune status of the animal. Thus, the following experiment was conducted in which 30 kids were divided into three groups based on their diets: one group fed a commercial milk replacer, and two other groups in which the milk replacer was added to a product rich in DHA, with a low concentration (9 g/l) or a high concentration (18 g/l), and parameters relating to growth, conformation and carcass quality and beef on one side and the immune status of the other were measured. Although there were no differences due to diet in most of the parameters studied, except for the fatty acid profile, which were developed in the intramuscular, perirenal, pelvic, subcutaneous and intermuscular fat tissues, in which were found that those animals supplemented with DHA had increased concentrations of this fatty acid in their tissues in a dose-dependent way, improving the ratio omega-6/omega-3 which is so important to health. As for the measured parameters of immune status (IgG, IgM, complement activity and chitotriosidase activity), there also were no differences attributed to the diet. These results lead us to conclude that the addition of polyunsaturated fatty acids omega-3 is justified as a way to improve fatty acid profiles, but not for the other parameters.

## **Summary**

Continuing the subject, although cow's milk is an essential component of all milk replacers and feeding with cow's milk to kids is a common practice among farmers, this product has received little attention from a scientific approach, so it is necessary to study its relation with growth, carcass quality and meat and the immune status of animals fed with this product. Thus, we developed an experiment in which also testing the use of DHA fortification. Three experimental groups were proposed: a control group fed with goat milk, a second which was fed with powdered whole cow's milk at a concentration of 16%, and a third group in which DHA was added in a concentration of 0.9% (w/w) in powdered cow's milk with the same amount of final dry matter (16%). It was measured parameters on growth, carcass quality and meat, as well as others relating to the animal's immune system, IgG, IgM, complement system and chitotriosidase activities. There were no differences in the parameters for growth and carcass quality and meat, but again differences were found in the fatty acid profile, revealing that the addition of omega-3 fatty acids in animal diet, enriched the animal issues in this fatty acid. In terms of immune parameters, there was also no effect.

While, although the improvement of the meat nutritional quality supplemented with DHA is patent, this would not be important without a good sensory perception by the consumer. There are many works studying the fatty acid profiles of meat supplemented with omega-3 fatty acids, but few have the necessary attention on the sensory quality of this meat. Thus, meat from animals fed with milk replacer, powdered whole cow's milk, milk replacer supplemented with a low or a high dose of DHA, and whole cow's milk powder supplemented with a low dose of DHA were evaluated descriptively by a semi-trained panel of nine assessors and with a triangle test by regular consumers of goat meat, finding that high doses of polyunsaturated fatty acids omega-3 produce meat with a strange odour, rancid and liver flavours, and a low score



## **Summary**

on the overall assessment, but nevertheless meats supplemented with a low dose of DHA maintain positive perception.

### **3. Objetivos.**

El objetivo general de esta tesis doctoral fue el estudio de la mejora de la lactancia artificial caprina a través de la modificación de los lactorreemplazantes.

Objetivos específicos

- Estudio de la composición del lactosuero atendiendo a su procedencia.
- Desarrollo de una técnica apropiada para medir la actividad del sistema de complemento en la especie caprina.
- Profundización del conocimiento del sistema de complemento de la especie caprina, mediante el aislamiento de proteínas mayoritarias.
- Estudio del efecto de la adición al lactorreemplazante del ácido graso poliinsaturado omega-3 DHA a varias concentraciones, sobre el crecimiento, calidad de la canal y de la carne y estado inmune de los animales.
- Estudio del efecto de la alimentación con leche entera de vaca en polvo, sobre el crecimiento, calidad de la canal y de la carne y estado inmune de los animales.

### **4. Introducción divulgativa**

#### **4.1.El sector caprino**

El sector caprino y ovino representaba el 11,5% dentro de la producción animal nacional en 2009, habiendo sufrido una reducción del 19,4% desde 2007 achacándolo a varias razones como la Reforma de la PAC y la aparición de la lengua azul, pero principalmente al encarecimiento de las materias primas para alimentación animal; si bien, hay que tener en cuenta que coincidió con un periodo de precios inusualmente bajos, llevando a una reducción importante de los márgenes de comercialización.

El censo caprino, a mes de noviembre de 2009, lo componían 2.933.782 cabezas, número que lleva estabilizado tres años (MARM, 2009). Así, la evolución de la cabaña caprina ha sufrido ligeras oscilaciones debidas principalmente a la inestabilidad de los precios de la leche de cabra, principal producción caprina en nuestro país. Las Comunidades Autónomas que cuentan con los mayores censos son, por este orden, Andalucía, Castilla La Mancha, Canarias y Extremadura, concentrando el 81% del censo nacional. En cuanto a la cabaña comunitaria, España se encuentra en el segundo lugar con el 22% del censo a continuación de Grecia (39,8%) según datos de 2008, integrando esta cabaña principalmente razas autóctonas y destacando en el censo las razas Murciano-granadina, Majorera y Malagueña. En la siguiente tabla se puede observar la distribución de la cabaña a nivel de la Comunidad Autónoma de Canarias:

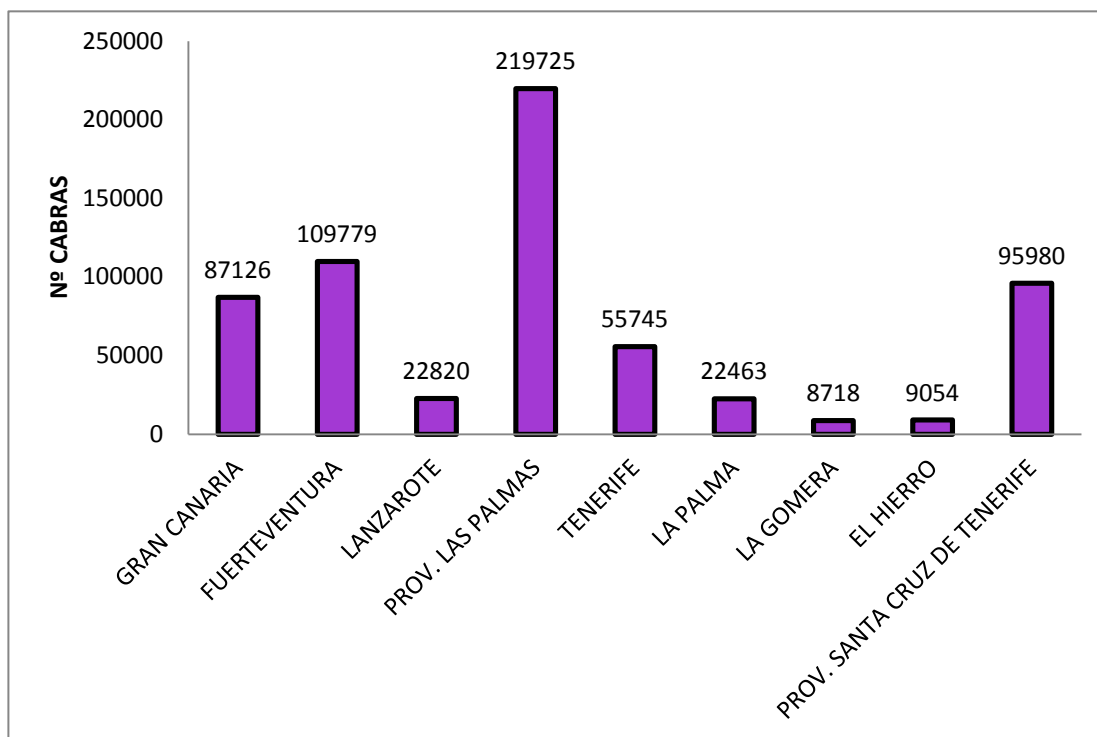


Fig. 1. Número de cabras en la Comunidad Autónoma de Canarias en el año 2009 (datos recogidos en las estadísticas agrarias de la Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Medio Ambiente del Gobierno de Canarias).

La producción lechera, como se mencionó anteriormente, es la que prima en el sector, ya que se destina a su transformación en quesos y productos lácteos, siendo los principales productores Andalucía y Canarias.

En cuanto a la producción cárnica comunitaria de caprino, ésta muestra un ligero declive desde 2004, siendo el área helénica el primer productor y consumidor seguido por España. En el resto de países la producción es testimonial, excepto en el caso de Francia e Italia donde se mantiene una demanda interna consolidada (Fernández, 2008).

Así, viendo la importancia que el sector caprino tiene en España y principalmente en el Archipiélago Canario, se hacen necesarios nuevos estudios para impulsarlo.

#### **4.2.Lactancia artificial**

Aunque actualmente el uso de la lactancia artificial en el sector caprino se está generalizando como consecuencia de la utilización de la leche para la producción de queso, es una práctica poco utilizada en comparación con otras especies como el vacuno o el ovino. Sin embargo, hay que remarcar que son muchas las ventajas de este tipo de lactancia, entre las cuales podemos destacar las siguientes (Argüello, 2000):

- Se puede criar con éxito a los cabritos mediante un lactorreemplazante de menor precio que la leche de cabra.
- Evita las malformaciones de las ubres de animales de parto simple.
- Permite un buen control higiénico-sanitario de los cabritos, teniendo como consecuencia una menor mortalidad durante este período.
- Favorece la cría de animales procedentes de partos triples y cuádruples, así como de animales huérfanos o con madres agalácticas.



Fig.2. Cabritos criados bajo lactancia artificial

### **4.3.Lactorreemplazantes**

Son muchos los lactorreemplazantes comerciales que se pueden encontrar en el mercado. Estos lactorreemplazantes están formulados específicamente para cada especie y están basados principalmente en leche de vaca, cereales y grasa vegetal (Bañón *et al.*, 2006). Sin embargo, aunque el precio normalmente está muy por debajo de la leche de cabra, determinadas situaciones como las ocurridas en torno al año 2007 hicieron que los precios de estos lactorreemplazantes se disparasen en algunas localizaciones geográficas y que se tuviese que pensar en otras fórmulas más rentables basadas en diferentes ingredientes más baratos que la leche de cabra.

#### **4.3.1. Lactosuero**

El lactosuero es un producto de desecho que se produce en la transformación de leche en queso. Una práctica usual de las queserías es el arrojar este producto por el desagüe, especialmente en aquellas de pequeña dimensión, encontrando problemas medioambientales debido principalmente a las grandes cantidades que se generan (el lactosuero representa entre un 80 y un 90% del volumen de la leche transformada) y a que es un producto considerado de alto poder contaminante debido a su DQO (demanda química de oxígeno) de 60 g/kg (Bullerman and Berry, 1966) y a su DBO (demanda biológica de oxígeno) de 35 g/kg (Siso, 1996).

Sin embargo, es una fuente barata de nutrientes, conteniendo aproximadamente un 4,5% (p/vol) de lactosa, un 0,8% (p/vol) de proteína, un 1% (p/vol) de sales, y de un 0,1% a 0,8% (p/vol) de ácido láctico (Yang *et al.*, 1994), convirtiéndose en un ingrediente rico y barato, por lo que actualmente se está introduciendo como componente esencial en las fórmulas comerciales.

Así, Tacchini *et al.* (2006) ya definían el lactorreemplazante ideal, basándose en el uso del lactosuero, con las siguientes características: a) apropiado para utilizar el

## **Introducción divulgativa**

suero proveniente de los granjeros, b) reducir el coste de la alimentación, c) pequeña cantidad de ingredientes, y d) uso alternativo de proteínas y otras fuerzas energéticas.

Sin embargo, son varios los problemas encontrados con su uso, siendo el principal la alta cantidad de lactosa presente, pero también la alta acidez causada por los ácidos láctico y acético (Weijers y Van de Kamerj, 1965), una disminución en el consumo de los animales, y la baja o nula cantidad de caseínas, necesaria para que se produzca el coágulo en el abomaso, lo que hace posible las invasiones microbianas (Volcani y Ben-Asher, 1974), conllevando la aparición de diarreas y una menor ganancia de peso (Galina, 1994). Aun así, se viene utilizando históricamente en la alimentación de animales adultos, principalmente en cerdos y vacas (Anderson *et al.*, 1974; Volcani *et al.*, 1974; Schingoethe, 1976; Fisher, 1981; Schingoethe and Skyberg, 1981; Morel D'Arloux, 1982; Grancher y Jean-Blain, 1982; Succi *et al.*, 1985), pero también en cabras (Broqua y de Simiane, 1983; Hacala, 1989, Rapetti *et al.*, 1995).

En cuanto a los animales lactantes, debido a causas principalmente económicas, es un tema que lleva creando interés desde hace muchos años. Así, Bart *et al.* (1972) encontraron que un 50% de lactosuero en los lactorreemplazantes era bien aceptado por los terneros, mientras que Morrill *et al.* (1971) vieron que la cantidad podía ser aumentada hasta el 76% cuando se asociaba a una baja cantidad de grasa. Volcani y Bend-Asher (1974), también trabajando con vacas, se aventuraron a utilizar el 100% de lactosuero en polvo variando la materia seca utilizada, con proporciones que iban desde los 300 a 700 g de lactosuero en polvo por litro de agua caliente y suplementando con concentrado. De esta manera, encontraron que los terneros crecían alrededor de un 25% menos que los alimentados con un lactorreemplazante comercial.

Ya en cabritos, Galina *et al.* (1995) sustituyeron el agua necesaria para preparar el lactorreemplazante por lactosuero líquido en diferentes proporciones: 20%, 35% y

50%, observando que a mayor cantidad de lactosuero utilizado, mayores casos de diarrea se observaban y menor era la ganancia media de peso diaria. Sin embargo, advirtieron que a bajas concentraciones sería una buena manera de mejorar la calidad nutricional del sustituto de la leche. *Tacchini et al.* (2006) utilizando una fórmula con un contenido de un 29% de lactosuero consiguieron un buen índice de conversión, pero con un crecimiento menor de los cabritos.

### **4.3.2. Leche de vaca**

Aunque la leche de vaca es uno de los principales componentes de todos los lactorreemplazantes comerciales y siendo una práctica muy común entre los ganaderos el amamantar a los cabritos con leche de vaca, poca ha sido la atención que se le ha puesto a este producto desde una aproximación científica. Sólo algunos trabajos antiguos como el de Opstvedt (1968), Skjevdal (1974), Hogue *et al.* (1980), Mowlew (1982) o Morand-Ferh *et al.* (1982) revisaron el uso de leche de vaca entera en la alimentación de cabritos, viendo que si bien era posible su uso, llegaba a causar algunos problemas, por lo que por ejemplo Opstvedt (1968) necesitó el uso de antibióticos para obtener un buen crecimiento. Más tarde, Galina *et al.* (1995) volvieron a probar el uso de leche de vaca de la raza Ayrshire para la alimentación de los cabritos, obteniendo unos resultados muy semejantes a los encontrados con leche de cabra. Todos estos trabajos utilizaron leche de vaca líquida, no habiéndose encontrado por los medios accesibles, trabajos utilizando leche de vaca en polvo. Es sabido que la cantidad de materia seca es muy importante en relación al consumo y a la asimilación de los nutrientes de los alimentos (Sanz-Sampelayo *et al.*, 1996), por lo que el uso de la leche de vaca en polvo parece una buena forma de poder encontrar esa cantidad de materia seca óptima.



### **4.3.3. Proteínas**

Las proteínas lácteas son aquellas que mayor calidad biológica contiene para el desarrollo de los cabritos lactantes. Éstas son las responsables de que se produzca la cuajada en el abomaso y los cabritos puedan retener y absorber los nutrientes. Así, como ya se ha nombrado, aunque el lactosuero contiene unas proteínas de alto valor biológico debido a su origen lácteo, la falta de caseínas en este subproducto hace que no sea un producto idóneo para poder ser utilizado por sí mismo. Sanz-Sampelayo *et al.* (1995) observaron que los lactorreemplazantes con un mayor contenido en proteína tenían una mayor digestibilidad, siendo atribuido a una mayor cuajada abomasal que enlentecía el paso de la proteína y la grasa.

En la literatura científica se pueden encontrar otras proteínas además de las lácteas, encontrando en las proteínas de la soja un sustituto barato de las proteínas lácteas para los lactorreemplazantes de rumiantes. Sin embargo, debido principalmente a que estas proteínas no son capaces de formar el coágulo en el abomaso, la conformación de los animales alimentados con estas proteínas es menor (Lallés, 1993). El hecho de no formar el coágulo hace que el alimento pase más rápidamente por el tracto digestivo (Seegraber and Morrill, 1986), alterando de esta forma la estructura intestinal con consecuencias en la absorción intestinal (Schönhusen *et al.*, 2007).

Por otro lado, el uso de proteínas de pescado en la formulación de los lactorreemplazantes también ha sido el objeto de numerosas investigaciones sobre todo en vacas, donde se ha encontrado que aunque el precio es más bajo que el de las proteínas lácteas, el crecimiento y la digestibilidad son peores, encontrándose incluso deficiencias en vitamina E, con el resultado de la muerte del animal en algunos casos (Huber, 1975).

### **4.3.4. Grasas**

Aunque el lactosuero y la leche de vaca son los ingredientes mayoritarios de los lactorreemplazantes, no se puede dejar atrás el uso de las diferentes grasas, donde hay un campo muy grande por explorar.

La grasa láctea, al igual que sucedía en el caso de las proteínas lácteas, no puede ser comparada con ninguna otra en cuanto a valor nutricional para el lactante se refiere, principalmente debido a su riqueza en ácidos grasos fácilmente digeribles de cadena corta (Raven, 1970). Sin embargo, las grasas que se adicionan en los lactorreemplazantes comerciales son o bien de origen animal o vegetal, pero siempre más baratas que las lácteas.

El sector bovino, pionero dentro del grupo de los rumiantes, tradicionalmente ha utilizado grasas animales en la formulación de los lactorreemplazantes, bien manteca, sebo o grasa. Lo más utilizado era el sebo, pero debido a alertas alimentarias como la de las “vacas locas”, los consumidores se volvieron más reticentes al uso de estas grasas, y se prefirió el uso de la manteca de cerdo. Esta manteca se ha observado que tiene una menor digestibilidad que la grasa láctea (en torno al 90%; Raven, 1970), que junto con un alto contenido en ácidos grasos saturados y una menor cantidad de ácidos grasos de cadena media fácilmente digeribles, hacen a las grasas vegetales con una mayor cantidad de ácidos grasos de cadena corta y una mayor insaturación, una mejor elección. Si bien, las grasas vegetales más utilizadas actualmente debido a su bajo coste son la de palma y la de coco, que además tienen una mayor cantidad de ácidos grasos saturados que hacen que el cabrito engorde más rápidamente.

Sin embargo, hoy en día son otras grasas las que están centrando más la atención, principalmente aquellas ricas en ácidos grasos poliinsaturados, si bien se tratarán más adelante.

### **4.3.5. Otros ingredientes adicionales**

En la formulación de los lactorreemplazantes no sólo se deben de tener en cuenta los macronutrientes, sino que se debe prestar mucha atención a los micronutrientes debido a su importancia. Así, muchos son los trabajos en los que se ha probado con diferentes cantidades de minerales, vitaminas o nucleótidos.

Nonnecke *et al.* (2010) no observaron cambios en las concentraciones de vitaminas y minerales en terneros con diferentes velocidades de crecimiento, aunque otros autores vieron que animales con una muy alta tasa de crecimiento, pueden encontrarse con deficiencias en estos parámetros (Roy, 1990). Por otro lado, un mineral que está recibiendo mucha atención es el selenio, ya que se ha encontrado que el selenio influye en la respuesta inmune en algunas especies animales debido a la activación de la fagocitosis de los neutrófilos, incrementa la producción de anticuerpos y mejora la proliferación linfocitaria (Spears, 2000; Panousis *et al.*, 2001). Así, Kamada *et al.* (2007) suplementando el calostro a terneros con selenio vieron un aumento de la concentración de IgG en el plasma. Por otro lado, aunque la cantidad de selenio en el lactorreemplazante es importante, recientemente Neville *et al.* (2010) han visto que es muy importante que las madres tuviesen un buen aporte de este mineral durante la gestación.

Hill *et al.* (2008) observaron la necesidad de formular los lactorreemplazantes no sólo por la cantidad de proteína cruda, si no teniendo en cuenta la cantidad de lisina y metionina.

Los nucleótidos de la dieta pueden tener efectos beneficiosos en el crecimiento intestinal y en su reparación (Schlimme *et al.*, 2000). Los tejidos que se renuevan rápidamente como el epitelio intestinal, podrían utilizar estos nucleótidos para su incorporación a las células intestinales (Greife, 1984). Por lo que estos nucleótidos

pueden ser utilizados en las fórmulas comerciales para mejorar el tejido epitelial y así protegerlo de los efectos adversos de las diarreas e incluso permitiendo una recuperación más temprana (Kehoe *et al.*, 2008).

### **4.3.6. Condiciones de los lactorreemplazantes**

Los lactorreemplazantes comerciales suelen encontrarse acidificados, debiéndose a varias razones: primero, una vez reconstituido, permanece en buen estado durante más tiempo (alrededor de tres días), disminuyendo de esta manera los costes debidos a pérdidas innecesarias y disminuyendo el tiempo diario necesario para realizar la mezcla del producto (Davis *et al.*, 1998). Así, el pH 5,2 es el más utilizado ya que sirve como modo de conservación y los cabritos muestran una mayor apetencia por los sabores ácidos (Sahlu *et al.*, 1992).

Otra condición a tener en cuenta es la cantidad de materia seca total utilizada. Así, Sanz-Sampelayo *et al.* (2003), relacionaron la toma de alimento voluntario de los lactorreemplazantes por los animales prerrumiantes con el contenido en materia seca de las fórmulas. Cuando la concentración de materia seca en el lactorreemplazante es baja, se produce una distensión del abomaso que va a desregular la toma de alimento, sin embargo cuando la concentración en materia seca se incrementa, la toma de alimento voluntario se auto-regula principalmente por los requerimientos energéticos del animal (Stobo *et al.*, 1979), afectando una restricción de la materia seca en el crecimiento del cabrito (Allegretti *et al.*, 1998).

### **4.4.La nueva era de la alimentación animal**

Después de un breve repaso de los lactorreemplazantes, es el momento de introducir algunos ingredientes actualmente utilizados, principalmente grasas o aceites ricos en determinados ácidos grasos de interés, que son introducidos en la dieta de los animales lactantes.

Dentro de estos productos se encuadran principalmente los aceites de pescado, otros aceites de origen marino (algas), o bien productos comerciales purificados a base del ácido graso en cuestión, principalmente debido a la riqueza de estos compuestos en ácidos grasos poliinsaturados de interés humano.

### **4.4.1. Ácidos grasos poliinsaturados (PUFA)**

Los ácidos grasos que más atención están focalizando actualmente son aquellos pertenecientes al grupo de los ácidos grasos poliinsaturados, conocidos normalmente por su acrónimo en inglés: PUFA (PoliUnsaturated Fatty Acid). Estos ácidos grasos son aquellos que estructuralmente contienen más de un doble enlace en su cadena. Dentro de los PUFA a su vez se encuentran dos grupos muy importantes tanto para la nutrición humana como para la animal: los ácidos grasos omega-6 y omega-3, los cuales tienen que ser consumidos con la dieta.

#### **4.4.1.1. Omega-6 PUFA**

Estos ácidos grasos se caracterizan por tener el doble enlace final en la posición n-6 que es el sexto enlace contando desde el extremo metilo. Principalmente se encuentran en los aceites vegetales de semillas y frutos secos. El principal ácido graso omega-6 es el ácido linoleico (C18:2n-6), el cual debe ser aportado por la dieta ya que no puede ser sintetizado por los mamíferos, pero una vez consumido se metabolizará a ácido  $\gamma$ -linolénico (C18:3n-6) y ácido dihomo- $\gamma$ -linolénico (C20:3n-6) para formar mediante varias desaturasas y elongasas, el ácido araquidónico (AA; C20:4n-6).. Este AA se metabolizará después a ácido docosapentanoico (C22:5n-6) o eicosanoides (Schmitz and Ecker, 2008).

Estos ácidos grasos omega-6, predominantemente el AA, son convertidos a prostaglandinas, leucotrienos y otros productos de lipooxigenasas y ciclooxigenasas,

siendo todas estas moléculas importantes reguladores de la función celular con efectos inflamatorios, aterogénicos y protrombóticos (Schmitz and Ecker, 2008).

### **4.4.1.1.1. Ácido linoleico conjugado (CLA)**

El ácido linoleico conjugado, más comúnmente conocido como CLA, ha recibido mucho interés en los últimos años tanto a nivel de los humanos como de los animales. El CLA realmente representa a un grupo heterogéneo de isómeros del ácido linoleico que son encontrados en la leche, productos lácteos, carne y productos cárnicos de rumiantes, debido a la biohidrogenación que sufren en el rumen y la ubre de estos animales, de los cuales los isómeros más estudiados son el cis-9,trans-11 CLA, representando el 80% del total del CLA en los alimentos, y el trans-10, cis-12 CLA, el cual presenta una actividad mayor que el primero debido a la posición de sus dobles enlaces (Churrua *et al.*, 2009). Así, se le han atribuido diferentes efectos beneficiosos desde el punto de vista nutracéutico en obesidad, cáncer, enfermedades cardiovasculares, diabetes, además de presentar efectos inmunomoduladores, apoptóticos y osteosintéticos (Benjamin y Spener, 2009).

Estudios desarrollados en animales y humanos, indican que el consumo de CLA conlleva una pérdida de grasa y del peso total corporal, reduce las concentraciones en plasma de colesterol total y LDL-colesterol y tiene un efecto antiinflamatorio (Ostrowska *et al.*, 2002; Feitoza *et al.*, 2009). Así, existe una sinergia entre la fortificación de los alimentos de los animales de producción con productos ricos que potencien la formación de esta grasa, o directamente con el ácido graso, para la mejora tanto del propio animal como del humano que va a consumir productos derivados de éstos, debido a una relación directa de la cantidad de CLA que es consumido por el animal y la posterior cantidad que éste poseerá en su carne o leche (Hess *et al.*, 2008;

Or-Rashid *et al.*, 2010), sin olvidar que también existe síntesis en la ubre del animal (Khanal y Dhiman, 2004).

En cuanto a efectos sobre la calidad de los productos, uno de los mayores es la reducción del contenido y el rendimiento de grasa en la leche en vacas lecheras, en ovejas y cabras (Bauman *et al.*, 2008; Lock *et al* 2006, 2008). Sin embargo, aunque se ha visto que en otras especies se da una reducción de la grasa total del cuerpo y de los depósitos grasos (Wang y Jones, 2004), este efecto no se observa en rumiantes, ni en lactantes ni en animales jóvenes o adultos (Gillis *et al*, 2004; Wynn *et al.*, 2006; Sinclair *et al.*, 2010).

Por otro lado, hay que tener en cuenta el efecto claramente beneficioso sobre el sistema inmune de esta molécula. Estudios realizados en cabras adultas suplementadas con CLA antes y después del parto, encontraron que los niveles de IgG fueron mayores después del parto (Castro *et al*, 2006); mientras que cabritos que recibieron un suplemento de CLA con su lactorreemplazante, vieron mejorada la actividad del sistema de complemento (Castro *et al.*, 2008).

### **4.4.1.2.Omega-3 PUFA**

Por otro lado, los ácidos omega-3 se caracterizan por tener el doble enlace final en la posición n-3, que es el tercer enlace desde el grupo metilo del final de la molécula. Las fuentes más ricas en estos ácidos grasos omega-3 son los peces de agua fría (salmón) y los pescados azules (sardina), además de otras fuentes marinas como son las algas y microalgas; mientras que en el reino vegetal, el mayor representante lo encontramos en la semilla de lino.

El principal ácido graso perteneciente a esta familia es el ácido  $\alpha$ -linolénico (C18:3n-3) que es convertido a ácido estearidónico (C18:4n-3) y ácido eicosatetraenoico (C20:4n-3) para formar el ácido eicosapentanoico (EPA; C20:5n-3) usando las mismas

enzimas que las usadas para sintetizar el AA (desaturasas y elongasas). Además, este EPA será metabolizado a su vez a ácido docosahexaenoico (DHA; C22:6n3) o eicosanoides (Schmitz and Ecker, 2008).

Los ácidos grasos omega-3 recibieron la mayor atención a partir de los años cincuenta cuando se observó que la población esquimal presentaba una baja incidencia de enfermedades del corazón a pesar de la gran cantidad de grasa que ingerían, relacionándolo con que el pescado que consumían tenía una alta cantidad de ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (Dyerberg *et al.*, 1975). De esta manera, a partir de este descubrimiento, muchas son las investigaciones que se han hecho con los potenciales efectos preventivos de los omega-3 en diferentes enfermedades como pueden ser las cardiovasculares, artritis reumatoide, asma o muchas otras (Riediger *et al.*, 2009).

Los ácidos grasos a los que más atención se les está prestando dentro de este grupo son el DHA y el EPA, ya que se ha encontrado que son dos ácidos grasos críticos para el funcionamiento correcto multiorgánico (Moghadasian, 2008) los cuales compiten por las enzimas y los productos del metabolismo del AA, que son antagonistas en los efectos proinflamatorios de los ácidos omega-6 (Schmitz and Ecker, 2008).

### **4.4.1.2.1. Ácido docosahexaenoico (DHA)**

El DHA es una molécula que forma parte de todas las membranas celulares de los mamíferos (Salem, 1989), componente esencial del tejido nervioso y en altas concentraciones en la membrana fosfolipídica de la materia gris del cerebro y en la retina (Lien y Hammond, 2011). Así, teniendo en cuenta la rápida acumulación del DHA durante el crecimiento del cerebro, llegando incluso a ser transportado a través de la placenta durante la gestación (Green y Yavin, 1998; Hannebutt *et al.*, 2009), y su función en el cerebro, manteniendo la normalidad en las funciones de las neuronas (Horroks y Yeo, 1999), sistema nervioso y el desarrollo visual, los aportes



recomendados de DHA por los profesionales se han centrado en aumentar los requerimientos para los neonatos y las mujeres embarazadas (Kris-Etherton *et al.*, 2009) y lactantes (Imhoff-Kunsch *et al.*, 2011).

Si bien, aunque el DHA se puede sintetizar endógenamente a partir del ácido  $\alpha$  - linolénico, esta cantidad no sería suficiente para sustentar el crecimiento y las necesidades nutricionales adecuadamente, por lo que se hace necesario que sea aportado por la dieta (Saldanha *et al.*, 2009). Además, su papel en reducir el riesgo de determinadas enfermedades relacionadas con la edad, como la enfermedad de Alzheimer (Jicha y Markesbery, 2010), hace que las recomendaciones diarias del DHA deban ser aumentadas (EFSA, 2009)

Por otra parte se ha discutido mucho sobre la forma de ingerir este DHA, encontrando que hay diferencias en la biodisponibilidad del nutriente dependiendo de la fuente del DHA. Las fuentes más utilizadas son los propios alimentos que consumimos o los suplementos alimenticios. Dentro de estos últimos tenemos que diferenciar que el DHA que se utiliza en estos suplementos puede provenir a su vez de dos fuentes: el aceite de pescado o el aceite de algas.

Se ha demostrado que todas las fuentes, tanto las alimenticias como los suplementos, incrementan los niveles de DHA en el plasma y en los eritrocitos (Agren *et al.*, 1996), aunque se han encontrado otros en los que este nivel es menor utilizando etilésteres de DHA (Visioli *et al.*, 2003). Sin embargo, utilizando DHA proveniente de aceite de algas, esto no ha ocurrido, obteniendo resultados similares a los encontrados con salmón (Arterburn *et al.*, 2008).

Al igual que con el CLA, en el caso del DHA se encuentra una sinergia entre los efectos beneficiosos para los seres humanos y para el propio animal productor (de carne o leche) que lo ingiere. Así, el ser humano se ve beneficiado con un aporte extra de este

ácido graso con los beneficios que esto conlleva para su salud, mientras que el animal en cuestión también desarrolla ciertos beneficios. Si bien, aunque la fortificación de los productos con este ácido graso es evidente tras su consumo alimenticio, en cuanto a los parámetros inmunes en la literatura científica se encuentran muchas contradicciones: así, Lewis *et al.* (2008), no encontraron una mejora en los recuentos de eosinófilos, basófilos ni monocitos, y aunque hubo una alteración en los perfiles de los ácidos grasos del plasma, no se vio reflejada en una mejora en la función inmune. Sin embargo otros autores han encontrado que el DHA tiene efectos beneficiosos sobre la salud de las cabras mejorando los títulos de neutrófilos sin incrementar los daños tisulares (Savoini *et al.*, 2010) por una parte, o modulando la expresión de genes proinflamatorios (Calder, 2002, 2006).

### **4.4.2. Indicadores de la calidad de la dieta**

#### **4.4.2.1. Ratio omega-6/omega-3**

Debido a los efectos antagónicos que poseen los ácidos grasos omega-3 y omega-6, el ratio omega-6/omega-3 se convierte en un parámetro a tener en cuenta. Actualmente, debido al giro hacia la producción intensiva, las carnes han sufrido un cambio en este ratio viéndose enormemente aumentado, debido principalmente a una alimentación basada en concentrados con un gran aporte de ácidos grasos del grupo omega-6. De esta manera, aunque el ratio exacto continúa siendo debatido, las recomendaciones de diferentes organizaciones de salud mundiales (Marra y Boyar, 2009; EFSA, 2010) sugieren una bajada en los niveles de estos ratios a unos valores de 3:1 (Kris-Etherton *et al.*, 2000), que es lo que se considera como el balance óptimo para la salud humana. Sin embargo, aunque inicialmente los animales no estabulados que pastaban en libertad poseían un ratio cercano al 1:1 (Raper *et al.*, 1992), nos encontramos con ratios de 15-20:1. Así, con estos ratios tan altos, se corre el peligro de

que con la abundancia de los ácidos grasos omega-6 y la deficiencia en los ácidos grasos omega-3 se contribuya al endurecimiento de las paredes arteriales o a problemas con procesos inflamatorios en el sistema nervioso u órganos gastrointestinales (Cannon, 2009).

Por ello, se recomienda o bien una bajada en el consumo de ácidos grasos omega-6 o bien un aumento en el consumo de ácidos grasos omega-3 (FAO/OMS, 1997), algo realmente difícil en las dietas occidentales debido al bajo consumo de pescado, fuente principal de estos ácidos omega-3. Así, se recomendó la fortificación de otros alimentos en estos ácidos grasos, principalmente con DHA (Given y Gibbs, 2008).

### **4.4.2.2. Índice de aterogenicidad (IA)**

Este índice fue sugerido por Ulrich y Southgate (1991) como una forma real de caracterizar las dietas. Hasta el momento, se utilizaban otros índices por separado como el contenido total de grasa, el contenido de grasa saturada, el índice grasa poliinsaturada/grasa saturada, la proporción de energía que provenía de la grasa o el contenido en omega-3 u omega-6 por separado, algo que llevaba engañosamente a desarrollar recomendaciones dietéticas simplistas, ya que no se tenían en cuenta los conocimientos que se iban desarrollando acerca de los posibles beneficios y perjuicios de los diferentes tipos de grasas y diferentes ácidos grasos. Así, este índice de aterogenicidad fue desarrollado integrando estos conocimientos de la siguiente manera:

Donde MUFA corresponde al acrónimo en inglés para denominar los ácidos grasos monoinsaturados y PUFA a los ácidos grasos poliinsaturados. En cuanto a los ácidos grasos saturados, sólo se tienen en cuenta aquellos ácidos grasos que más influencia tienen sobre las enfermedades cardiovasculares. De esta forma, aquellos alimentos con un IA mayor serán más perjudiciales que los que posean un IA menor.

### **4.4.3. Fortificación de alimentos con ácidos poliinsaturados omega-3.**

Como ya se ha comentado anteriormente, debido al bajo consumo de los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 que actualmente se vienen registrando en las poblaciones occidentales, principalmente debido al bajo consumo de pescado, junto con el auge que están presentando los alimentos funcionales y nutraceuticos, se están desarrollando una alta variedad de productos alimenticios con un contenido en ácidos grasos omega-3 alto.

En un principio la técnica utilizada fue la incorporación de productos, bien de pescados bien de semillas de lino en la alimentación del ganado, resultando en la acumulación de estos ácidos grasos en los tejidos y otros productos animales. En esta línea muchos han sido los trabajos en varias especies animales: por ejemplo, López-Ferrer *et al.* (2001) mostraron que todas las formas administradas de un aceite de pescado rico en omega-3 aumentaban hasta en 23,2 veces el contenido de DHA en pollos. Por otro lado, trabajando con cerdos, Leskanich *et al.* (1997) mostraron como cerdos alimentados con una mezcla de aceite de pescado y de colza aumentaban también el contenido en músculo de estos ácidos grasos. En lactantes, la técnica se ha probado por dos vías: la primera, haciendo que las madres incorporasen en la dieta estos ácidos grasos para que así tuviesen una leche más rica en omega-3, como así han hecho Or-Rashid *et al.* (2010) trabajando con ovejas y corderos, Cattaneo *et al.* (2006) y Sanz-Sampelayo *et al.* (2006) con cabras y cabritos, o Leonard *et al.* (2010) con cerdas y lechones. Y por otro lado, en el uso de la lactancia artificial incorporándolo en el lactorreemplazante o bien administrándolo vía oral, como hicieron Wistuba *et al.* (2005) en vacas, Demirel *et al.* (2004), Radunz *et al.* (2009)) o Díaz *et al.* (2011) en corderos o Yeom *et al.*, (2002), Marinova *et al.* (2005) o Navarro *et al.* (2008) con cabritos.

Pero no sólo se ha probado con carne, si no que la leche también ha mantenido una gran atención como se puede ver en los numerosos trabajos disponibles sobre el tema: Or-Rashid *et al.* (2009) en vacas, Toral *et al.* (2010) en ovejas o Cattaneo *et al.* (2006) en cabras.

Pero más recientemente se han probado otras tecnologías, incluyendo la manipulación genética para crear plantas o animales con la capacidad de sintetizar ácidos grasos omega-3 (Moghadasian, 2008).

No sólo se encuentran productos directos como la carne o la leche enriquecidos en omega-3 como el DHA, si no que se pueden encontrar en el supermercado un amplio abanico de productos fortificados con omega-3, liderándolo los huevos. El huevo fue de los primeros productos en los que se adicionó DHA en su composición, así trabajos como los de Scheideler y Froning, (1996), quienes introdujeron en la dieta de las gallinas aceites de colza y lino consiguiendo aumentar los niveles de ALA y DHA de los huevos; o el grupo de Herber y Van Elswyk, (1996), quienes introdujeron en la dieta productos ricos en DHA de microalgas marinas consiguiendo un mayor contenido que al hacerlo con aceite de linaza.

Además, también hay que hablar de multitud de productos que han sido creados por la industria alimentaria, tales como salchichas, a las cuales se les adicionan directamente DHA (Moghadasian, 2008), encontrando que el contenido de este ácido graso aumenta en el producto final. Pero también se han producido salchichas utilizando carne de cerdos previamente alimentados con aceite de pescado (Leskanich *et al.*, 1997), pudiendo encontrar problemas con olores indeseables a pescado (Bryhni *et al.*, 2002), algo que no ocurre si la suplementación fue vía lino (Sheard *et al.*, 2000). Otro producto en el que se ha probado el enriquecimiento, ha sido el bacón al que se le ha conseguido aumentar el contenido en DHA al alimentar a los cerdos con DHA

proveniente de algas (Meadus *et al.*, 2010). Pero no sólo se ha probado en productos animales, si no que también se han producido productos vegetales como el zumo de naranja, el cual se ha enriquecido con DHA algal microencapsulado (Hawthorne *et al.*, 2009).

### **4.5.Crecimiento**

Atendiendo a la definición de crecimiento de la Real Academia Española, el crecimiento es la acción de crecer, es decir, de tener aumento natural. Así, hay que atender a otras definiciones más biológicas como la de Gall (1972) que define el crecimiento animal como “el resultado de una oposición entre los procesos de anabolismo y catabolismo”, o como Schloss en 1911 que ya lo definía como “el aumento de la masa corporal, en función del tiempo, en forma que es característica de cada especie”.

Al representar el peso vivo del animal a lo largo de toda su vida, se produce una curva sigmoidea en la que se pueden diferenciar tres fases claras: fase de crecimiento acelerado desde el nacimiento al punto de inflexión de la curva, fase de crecimiento decelerado desde el punto de inflexión de la curva hasta el peso adulto y finalmente una fase de meseta que corresponde con el período de vida adulta del animal.

La ganancia media diaria (GMD) es la unidad que indica la velocidad de crecimiento del animal. Esta medida ha sido ampliamente utilizada en la literatura científica con el fin de tener una medida certera de la velocidad de crecimiento del animal (Marichal *et al.*, 2003; Argüello *et al.*, 2007). Sin embargo, también se utilizan otras formas de analizar el crecimiento, como el peso del cuerpo y el peso del cuerpo vacío (Sanz Sampelayo *et al.*, 1990) o los pesos medios de cada corral (Lewis *et al.*, 2008).

Otro indicador de la asimilación de la dieta por parte del animal y de la eficiencia del lactorreemplazantes es el índice de conversión (IC), el cual se define como la cantidad de alimento medido en kilogramos que toma un animal para incrementar un kilogramo de peso vivo; siendo un factor determinante en el momento de elegir el tipo de lactancia desde un punto de vista económico, aunque hay que tener en cuenta que el IC va a estar estrechamente relacionado con la calidad de la alimentación y con la edad del cabrito, obteniendo mejores valores a edades tempranas debido a un menor gasto energético en las necesidades de mantenimiento (Caravaca *et al.*, 2003).

### **4.5.1. Factores que afectan al crecimiento**

#### **4.5.1.1. Tipo de parto y peso al nacimiento**

La prolificidad, que con el aumento reduce el peso al nacimiento de los animales, va a afectar en la conducta del cabrito en la lactancia natural, mientras que en la lactancia artificial no va a tener tanta importancia debido a que, mientras que en lactancia natural un mayor peso al nacer es indicativo de un desarrollo comportamental más temprano (Ramírez *et al.*, 1998), en lactancia artificial no se observa este comportamiento (Gutiérrez *et al.*, 1994), aunque en estudios como el de Castro *et al.* (2009) se indica que animales con un menor peso al nacimiento o de partos múltiples deben recibir una mayor atención en cuanto a su encalostrado para evitar un fallo en la transferencia de inmunidad pasiva, ya que el acceso a las tetinas podría ser más difícil para ellos durante los primeros días de vida (Castro *et al.*, 2005).

Por otra parte, el peso al nacimiento tiene un claro efecto en el crecimiento, acortándose los tiempos en alcanzar el peso al sacrificio o la edad de destete de los animales con un mayor peso como ya reportó Fabelo *et al.* (1991) o Argüello (2000). Así, la estación del año también va a ser determinante, ya que como registraron Navarro

*et al.* (2008), los animales nacidos en otoño, que son mayores que los nacidos en primavera, presentaban una mejor tasa de crecimiento.

### **4.5.1.2.Genotipo**

El crecimiento es diferente en las diferentes razas, y es muy diferente si se trata de razas seleccionadas o de razas autóctonas. Así, cada grupo ha estudiado este parámetro con las razas disponibles, como por ejemplo, Argüello (2000) en cabritos de la ACC, Sanz Sampelayo (1990) en cabritos de la raza Granadina, Abrams *et al.* (1985) en cabritos de la raza Nubia o de cruces entre diferentes razas como Luo *et al.* (1998, 2000).

### **4.5.1.3.Edad**

El crecimiento de los cabritos será diferente a medida que aumente la edad como observaron Marichal *et al.* (2003), que encontraron unos mejores GMD para cabritos sacrificados a los 10 kg (151,41 g/día) frente a los cabritos sacrificados a los 25 kg (125,81 g/día) o a los 6 kg (99,77g/día). Así, y en lo que a la etapa lactante se refiere, los animales jóvenes presentarán un peor índice de conversión que los animales más mayores, debido posiblemente a un menor desarrollo del tracto digestivo, traduciendo en una peor asimilación y transformación del alimento (Tejón *et al.*, 1995).

### **4.5.1.4.Sexo**

Es sabido que los machos son más precoces en cuanto al crecimiento se refiere, como ya observaron Peña *et al.* (1994) quienes registraron una GMD de 212 g/día para los machos frente a 195g/día de las hembras, aunque sin alcanzar diferencias significativas, algo que sí encontraron Todaro *et al.* (2004), que observaron que la GMD de las hembras era significativamente menor que la de los machos (141 frente a 151



g/día, respectivamente), o Peña *et al.* (2007) quienes reportaron diferencias entre sexos en alcanzar el peso al sacrificio.

### **4.5.1.5. Alimentación**

Es muy importante para el crecimiento el tipo de lactorreemplazante con el que es alimentado el cabrito como ya se ha visto anteriormente. Así, mientras que los mejores crecimientos se dan en lactancia natural, la alimentación con lactorreemplazante también da muy buenos resultados como ya apuntó Argüello (2000), quien describió un índice de conversión del lactorreemplazante para los cabritos de 1,35 y 1,24 kg/kg para machos y hembras respectivamente, mientras que Sanz Sampelayo *et al.* (1990) no encontraron diferencias significativas en cuanto a los pesos de cabritos alimentados con leche de cabra o con lactorreemplazante bajo lactancia artificial, pero sí encontraron diferencias en cuanto a la grasa depositada en los riñones y la pelvis, siendo mayor con la leche de cabra y atribuyéndose a que la leche de cabra tiene una metabolización mejor (Vermorel *et al.*, 1980).

Por otro lado, en el experimento de Pérez *et al.* (2001), se puede observar la importancia de alimentar con un lactorreemplazante específico, ya que utilizando un lactorreemplazante de cabra frente a otro de vaca y a leche de cabra, encontraron que las GMD fueron de 108, 92 y 130 g/día respectivamente, suplementando en todo momento con pienso de arranque. Sin embargo, Galina *et al.* (1995), obtubieron muy buenos resultados con leche de vaca, aunque también probaron lactorreemplazantes con diferentes cantidades de lactosuero, alcanzando peores resultados, como Tacchini *et al.* (2006) quienes utilizando una fórmula a base de lactosuero, consiguiendo una GMD significativamente menor que utilizando un lactorreemplazante comercial, ocurriendo lo mismo con el índice de conversión.

Dentro de los trabajos realizados con lactorreemplazantes ricos en ácidos grasos poliinsaturados, Demirel *et al.* (2004), utilizando corderos como especie animal y añadiendo aceite de lino o aceite de lino más aceite de pescado, no encontraron diferencias en el crecimiento de los animales. En la misma línea, Radunz *et al.* (2009) tampoco observaron ninguna diferencia al añadir aceite de lino y soja, o que Marinova *et al.* (2007) que no encontraron diferencias entre los animales suplementados con un 2.5% de aceite de pescado y no suplementados, atribuyéndolo a que concentraciones menores del 8% de aceite de pescado no influyen en la ingesta, como observaron Rule *et al.* (1989). Ya con cabritos, Yeom *et al.* (2005) no encontraron diferencias ni en el GMD ni en el IC de cabritos alimentados con lactorreemplazantes que contenían diferentes cantidades de ácido linoléico, misma tendencia observada por Navarro *et al.* (2008), en cabritos de la raza Murciano-Granadina alimentados con o sin la adición de aceite de pescado (133,7 y 137,3 g/día, respectivamente). Si bien hay que hacer una mención a los trabajos realizados dentro de la lactancia natural en los que se suplementaba a las madres para conseguir una leche rica en ácidos grasos omega-3 que ofrecer a sus crías. Dentro de esta tónica encontramos el trabajo de Sanz Sampelayo *et al.* (2006) que consiguieron ganancias de 156 y 138 g/día para los cabritos suplementados y no suplementados respectivamente, atribuyendo esta mayor ganancia a la mayor cantidad de grasa disponible en la dieta.

### **4.5.1.6. Concentración del lactorreemplazante**

Algunos autores han estudiado la necesidad de realizar un período de adaptación a la lactancia artificial de los cabritos con menores concentraciones de lactorreemplante en los primeros días post-parto, conocido como fase de transición (López *et al.*, 1991; Fabelo *et al.*, 1992). López *et al.* (2001) utilizaron dos tipos diferentes de transiciones en las que se variaba la cantidad de materia seca: un primer grupo comenzando con

13,5% (p/p) pasando a 16,0%(p/p) y un segundo grupo con 16% (p/p) y 20% (p/p), aunque no encontraron diferencias finales entre los dos grupos, se observó que la mayor concentración favoreció la aparición de diarreas.

Sin embargo, esta práctica puede llegar a ser contraproducente, debido a que en los primeros estadios de vida, cuando la materia seca de la dieta del cabrito es baja, la distensión de su abomaso puede llegar a ser el principal factor regulador de su ingesta (Allegreti, 1995). Dietas con un bajo contenido en materia seca en los primeros días de vida, significan una restricción nutricional para el cabrito, ya que el cabrito tenderá a aumentar el consumo de lactorreemplazante para aumentar la ingesta de materia seca, pero la distensión del abomaso terminará afectando al no conseguir la ingesta necesaria (Allegretti *et al.*, 1998), traduciéndose en una menor ganancia de peso (Sanz Sampelayo *et al.*, 2003).

Un concepto que debe ser introducido aquí por la relación, es el concepto de crecimiento compensatorio, definido como el proceso metabólico mediante el cual el organismo acelera su crecimiento después de un periodo en el que el desarrollo se ha visto limitado normalmente debido a una ingesta reducida, con el fin de alcanzar el peso de los animales cuyo crecimiento nunca se ha visto reducido (Hornick *et al.*, 2000). Sanz Sampelayo *et al.* (2003) observaron este fenómeno en cabritos alimentados con una baja cantidad de materia seca.

Sin embargo cuando la cantidad de materia seca no es el factor limitante, la ingesta voluntaria de alimento por parte del cabrito se regulará principalmente por los requerimientos del animal (Sanz Sampelayo *et al.*, 2003), por lo que la tendencia actual es la de utilizar la misma concentración de lactorreemplazante durante toda la vida del animal.

### **4.6. Calidad de la canal**

Existen muchas definiciones de canal, pero Colomer-Rocher (1973) ya la definía como el conjunto de características de la canal cuya importancia relativa le confieren una máxima aceptación y un mayor precio frente a los consumidores. Así, en este caso uno de los factores más importantes que determina la calidad de la misma es la edad al sacrificio, de lo cual ya se preocupó Sierra en 1980 cuando opinó en cuanto a que la calidad del animal de sacrificio es un término subjetivo y dinámico que varía en el espacio y el tiempo y que es conveniente objetivar de alguna manera. Por lo tanto, todo depende de la persona que lo juzgue. Así, son muy diferentes las preferencias de los consumidores mediterráneos, principales consumidores de esta carne a nivel europeo, los cuales prefieren animales sacrificados entre los 7 y 8 kg de peso vivo (Peña *et al.*, 2007), comparadas con las preferencias de los consumidores de otras partes del mundo, que suelen preferir unos animales mayores, como por ejemplo en la India, donde se prefieren animales de entre 16-22 kg (Todaro *et al.*, 2004).

Colomer-Rocher *et al.* (1987) definieron la canal caprina como aquella parte del animal que comprende el cuerpo una vez eliminada la piel, la cabeza (separada entre el occipital y la primera vértebra cervical), los autópodos (separados a nivel de las articulaciones carpometacarpiana y tarsometatarsiana) y las vísceras. La canal retiene la cola, timo, porciones laterales del diafragma, riñones, grasa perirrenal y pélvica y en el caso de los machos, los testículos.

Esta definición es la aceptada hoy en día a la hora de realizar cualquier aproximación científica a la calidad de la canal en ganado caprino. Sin embargo, hay una clara relación de la cultura y el origen geográfico, ya que por ejemplo, en el Archipiélago Canario, la canal de cabrito siempre ha mantenido la cabeza, el hígado y la piel de la punta de la cola y en ocasiones los autópodos.

### **4.6.1. Peso y rendimiento canal**

El rendimiento canal es la relación entre el peso de la canal y el del animal antes del sacrificio, siendo un concepto básico en la producción cárnica. Sin embargo, antes del cálculo es necesario hacer notar que el peso vivo del animal se puede determinar en al menos tres momentos: en la propia granja antes del transporte al matadero (PVG - peso vivo en la granja-), justo antes del sacrificio (PVS -Peso Vivo Sacrificio-) y el peso vivo vacío (PVV) calculado al descontar el contenido digestivo PVS. Se diferencian también dos tipos de peso de la canal: el PCC (Peso Canal Caliente) inmediatamente después del sacrificio o bien el PCF (Peso Canal Frío) transcurridas las 24 horas del oreo.

Por lo tanto, se puede hablar de diferentes rendimientos de la canal: en primer lugar el Rendimiento Canal Ganadero (RCG) en el cual Sierra (1970) relacionaba el PCC con el PVS; por otro lado, el Rendimiento Canal Comercial (RCC) en el que se relaciona el PCF y PVS (Sierra, 1970) y el Rendimiento Canal Verdadero, definido por Charpentier (1967) como la relación entre el PCC y el PVV.

El rendimiento de la canal del ganado caprino es bajo, como sucede con los rumiantes, y suele rondar el 50% (Kirton, 1988), aunque presentando una gran variabilidad dependiendo de varios factores.

#### **4.6.1.1. Factores de variación del peso y rendimiento canal**

##### **4.6.1.1.1. Genotipo**

Son muchos los experimentos llevados a cabo en diferentes razas en cuanto al rendimiento de la canal se refiere. Así, Sanz Sampelayo *et al.* (1990), en cabritos de la raza Granadina, obtuvieron unos rendimientos de alrededor del 50%. Marichal *et al.* (2003) trabajando con cabritos de la Agrupación Caprina Canaria y sacrificando a 10 kg de PVS el rendimiento fue del 47%, mientras que en cabras de la raza Nebrodi el

rendimiento fue mayor (59%) a este mismo peso de sacrificio (Todaro *et al.*, 2004). Peña *et al.* (2007) en cabras de la raza Florida, obtuvieron un rendimiento del 52%.

### **4.6.1.1.2. Edad y peso al sacrificio**

No está clara la tendencia general de la edad al sacrificio en la calidad de la canal como se puede observar en los resultados de Marichal *et al.* (2003) quienes estudiaron la calidad de la canal en diferentes pesos de sacrificio (6, 10 y 25 kg), calculando los rendimientos de la canal basados tanto en el PVS como en el PVV, encontrando que mientras que en base al PVS los menores rendimientos se encontraban para los animales mayores, en cuanto al PVV los mejores rendimientos se alcanzaban con estas canales más pesadas.

Por otro lado, Peña *et al.* (2007) utilizando cabritos de la raza Florida a diferentes pesos de sacrificio (7-8, 10-11 y 14-15 kg) calcularon cuatro tipos de rendimientos de la canal: PCC/PVS, PCC/PVV, PCF/PVS y PCF/PVV, encontrando que estos rendimientos variaban entre el 49 y el 56%, y sin encontrar diferencias entre los diferentes grupos de sacrificio, si bien estos grupos se diferenciaban poco en cuanto al peso y atribuyéndolo a que todavía no tienen completamente desarrollado el tracto digestivo.

### **4.6.1.1.3. Sexo**

Peña *et al.* (2007) trabajando con canales ligeras, no encontraron ninguna diferencia entre los rendimientos de los sexos, al igual que Pérez *et al.* (2001), si bien estos autores encontraron un incremento no significativo en cuanto a los machos. Si bien anteriormente, Saxena *et al.* (1974) determinaron que el máximo rendimiento de la canal era alcanzado antes en las hembras que en los machos, a los 10-15 kg en las primeras y a los 25-30 kg en los últimos.

### **4.6.1.1.4. Alimentación**

El tipo de alimentación también está demostrado que influye en los rendimientos de la canal. Si bien hay que diferenciar los rendimientos de los animales que como principal alimento tienen un producto lácteo (prerumiantes), de aquellos que ya han desarrollado sus preestómagos. Así, cuando el consumo es principalmente lácteo, el reticulorúmen retrasa su desarrollo y eso hace que la proporción del peso canal sobre el peso vivo del animal sea superior (Brisson *et al.*, 1979; Bouchard *et al.*, 1980). Conforme los animales llegan a un completo desarrollo de su tracto digestivo, el rendimiento de la canal comienza a aumentar debido a la deposición de la grasa en la canal (Kirton, 1988).

Así, Sanz Sampelayo *et al.* (1990) no encontraron diferencias entre los cabritos alimentados con leche de cabra frente a un lactorreemplazante, al igual que Argüello *et al.* (2007) con los mismos alimentos. Pérez *et al.* (2007) tampoco encontraron diferencias significativas al alimentar con leche de cabra o lactorreemplazantes de vaca o cabrito; y Navarro *et al.* (2008) tampoco encontraron una mejora en el rendimiento de la canal al adicionar aceite de pescado. Si bien, Pérez (1982) ya planteó que el efecto en la calidad de la canal sólo puede ser detectado cuando existen grandes diferencias entre las raciones utilizadas.

### **4.6.2. Conformación de la canal**

La conformación de la canal ha sido definida de varias maneras, pero Colomer-Rocher y Kirton en 1975 la definieron como la distribución y proporción de las diferentes partes que componen el cuerpo. Por otro lado, Colomer-Rocher *et al.* (1987) establecieron que aunque la conformación es un término usado para una descripción visual de la forma de la canal que expresa la relación entre el espesor de la grasa y el músculo, la forma de la canal del cabrito es predominantemente de piernas largas y en la

mayoría de las razas y poblaciones la variación es escasa, por lo que no se consideraba útil el uso de estándares.

Sin embargo, otros autores como Argüello (2000) encuentran las siguientes ventajas a la hora de medir la conformación de la canal:

- Se puede mejorar a los animales en vivo consiguiendo mejorar el Rendimiento Canal, mejorar los crecimientos reales y mejorar el índice de transformación.
- Canales que presentan una buena morfología presentan un menor porcentaje de tejido óseo.
- Canales que presentan una buena morfología tendrán músculos más cortos, anchos y globosos, lo que representa un mayor rendimiento carnicero.
- Mejor aspecto exterior del animal, lo que conlleva a un mayor valor comercial.

Así, aunque la medida de la conformación de manera visual o subjetiva no está recomendada, se puede estudiar desde el punto de vista objetivo mediante los siguientes parámetros:

- Medida F: distancia más corta entre el perineo y la superficie articular tarso-metatarsiana. Medida con cinta métrica metálica (McMeekan, 1939).
- Medida L: longitud de la canal desde el borde anterior de la sínfisis isquiopubiana hasta la mitad del borde posterior de la primera costilla. Medida con cinta métrica metálica (Palsson, 1939).
- Medida G: anchura de las nalgas. Distancia máxima a nivel de los trocánteres. Medida con compás de espesores (Palsson, 1939).
- Medida Wr: anchura máxima de la canal a nivel de las costillas. Medida con compás de espesores (Barton *et al.*, 1949).



- Medida B: Perímetro máximo de las nalgas pasando la cinta métrica por debajo del nacimiento de la cola. Medida con cinta métrica flexible (Robinson *et al.*, 1956).
- Medida Th: profundidad máxima de la canal al nivel de la 6ª costilla. Medida con compás de espesores (Palsson, 1939).

Utilizando estas medidas, se construyen una serie de índices que ayudan al estudio de la conformación.

- Índice de compacidad de la canal: definido como el peso de la canal fría dividido por la longitud de la canal ( $PCC/L$ ) (Thwaites *et al.*, 1964).
- Índice de compacidad de la pierna, definido como la anchura de la grupa dividida por la longitud de la pierna ( $G/F$ ).
- Índice de longitud/anchura de la canal ( $L/G$ ).
- Índice de profundidad/longitud de la canal ( $Th/L$ ).
- Índice de redondez del pecho ( $Wr/Th$ ).

### **4.6.2.1. Factores de variación de la conformación de la canal:**

#### **4.6.2.1.1. Genotipo**

Las razas de aptitud cárnica presentarán una mejor conformación que aquéllas de actitud lechera como es de esperar, siendo la raza Boer la raza de aptitud cárnica por excelencia, con una compacidad menor que la oveja como relataron Van Niekerk y Casey (1988).

Por otro lado, Santos *et al.* (2008a) trabajando con la raza “cabrito del Barroso” consiguieron unos índices de compacidad de 10,8 kg/m para animales de entre 4 y 6 kg de canal. Peña *et al.* (2007) obtuvieron un índice de compacidad similar en cabritos de la raza Florida, al igual que Marichal *et al.* (2003) y Argüello *et al.* (2007) para cabritos de la Agrupación Caprina Canaria que alcanzaron valores con cabritos de 10 kg de peso

al sacrificio de 10,9 kg/m, indicando que aunque hay variación entre las diferentes razas, Colomer-Rocher *et al.* (1987) estaban en lo cierto.

### **4.6.2.1.2. Edad y peso al sacrificio**

Marichal *et al.* (2003) observaron un aumento del índice de compacidad de la canal con el aumento de la edad/peso de sacrificio, desde los 76,28 g/cm a los 6 kg hasta 152,91 g/cm a los 25 kg de peso al sacrificio. Algo que también observaron Argüello *et al.* (2005) a los 6 y 10 kg y Peña *et al.* (2007) con grupos desde los 7 hasta los 15 kg de peso al sacrificio, encontrando estos último autores también diferencias a nivel de la compacidad de la pierna, si bien los primeros observaron cómo este índice aumentaba con la edad, mientras que Peña *et al.* (2007) encontraron el efecto inverso.

### **4.6.2.1.3. Sexo**

Las hembras, según Colomer-Rocher *et al.* (1992) son más precoces que los machos, lo que hace que contengan proporcionalmente menor hueso y músculo que se traduce en una conformación diferente. Estos autores encontraron que a un peso similar de sacrificio las canales de las hembras eran más largas tanto de pierna como de longitud total, disminuyendo las diferencias conforme se aumenta el peso vivo. Sin embargo, Peña *et al.* (2007) vieron que las hembras eran menos largas y presentaban un menor índice de compacidad tanto de la canal entera como de la pierna, Santos *et al.* (2008a) también encontraron un menor índice de compacidad de las hembras.

### **4.6.2.1.4. Alimentación**

Argüello *et al.* (2007) observaron como los animales criados bajo lactancia natural o lactancia artificial variaban en cuanto a sus índices de compacidad tanto de la canal como de la pierna, aunque sin encontrar diferencias significativas. Sin embargo, otros trabajos como el de Falagan (1986) y el de Gutiérrez *et al.* (1995), encontraron

diferencias en cuanto a los dos tipos, encontrando que los animales criados con sus madres presentaron canales más redondeadas y mejor conformadas.

Por otro lado, trabajos en los que se miró la relación de la conformación con el consumo de diferentes aceites ricos en ácidos grasos poliinsaturados, utilizando una técnica visual, no encontraron diferencias entre ambos grupos de animales (Marinova *et al.*, 2007; Manso *et al.*, 2009).

### **4.6.3. Composición anatómica o regional de la canal**

La composición regional tiene como fundamento el despiece de la canal. El mejor despiece de la canal será aquel que permita un mayor aprovechamiento de la canal para su utilización comercial y culinaria, satisfaciendo tanto al consumidor como al carnicero, por lo que no siempre tendrá que coincidir con puntos anatómicos.

Aunque hay diferentes maneras de abordar el despiece dependiendo de tendencias y gustos locales (Flamant y Boccard, 1966), desde el punto de vista científico se utiliza el propuesto por Colomer-Rocher *et al.* (1987), normalizado con el fin de permitir una comparación adecuada entre tipos genéticos o regímenes alimenticios distintos, ya que esta composición anatómica se va a ver influenciada por varios factores.

#### **4.6.3.1. Factores de variación de la composición anatómica o regional de la canal**

##### **4.6.3.1.1. Edad y peso al sacrificio**

Peña *et al.* (2007) encontraron que a un mayor peso de sacrificio se tiende a un porcentaje mayor del costillar y de la grasa renal, mientras que el porcentaje de cuello decrece, al igual que encontraron Marichal *et al.* (2003). Aunque Argüello *et al.* (2007) sólo encontraron diferencias en el riñón derecho y la grasa perirrenal y pélvica, no encontrando diferencias en los principales cortes.

### **4.6.3.1.2. Sexo**

Colomer-Rocher *et al.* (1982) estudiando los índices de alometría de cada pieza de la canal, observaron que la pierna y la espalda presentaban valores negativos tanto en machos como en hembras, mientras que el costillar y los bajos mostraban alometrías positivas y superiores en las hembras debido a la alta acumulación de grasa. Por otra parte, el cuello presentó una alometría mayor en machos debido a las características sexuales.

Sin embargo, Todaro *et al.* (2004), Peña *et al.* (2007) y Santos *et al.* (2008a) sólo encontraron diferencias a nivel de la grasa pélvica y perirrenal, siendo mayor en las hembras, mientras que Pérez *et al.* (2007) no encontraron ninguna diferencia aparente.

### **4.6.3.1.3. Alimentación**

Argüello *et al.* (2007) sólo encontraron diferencias en el riñón y en la grasa perirrenal y pélvica en cabritos alimentados bajo lactancia natural o lactancia artificial con un lactorreemplazante comercial, de igual manera que Sanz Sampelayo *et al.* (1990), quienes establecieron que la calidad de la leche afecta a la proporción de la grasa perirrenal y pélvica.

Por otro lado, la relación entre la calidad de la canal y la adición de ácidos grasos poliinsaturados, también ha sido muy revisada. Así, Manso *et al.* (2009) utilizando corderos alimentados con diferentes aceites vegetales no encontraron ninguna diferencia en ninguno de los cortes. Sin embargo, Marinova *et al.* (2007) vieron que el aceite de pescado tendía a disminuir el peso de la semicanal y de los cortes, así como de los músculos por separado.

### **4.6.4. Composición tisular**

La composición tisular de la canal, debido a la gran variabilidad y a su influencia sobre el valor carnicero del animal, se convierte en un factor de gran transcendencia en la calidad comercial de la canal (Boccard y Dumont, 1976; Forrest *et al.*, 1979; Kempster *et al.*, 1982).

Los tejidos que se van a identificar en la aproximación a la composición tisular serán el muscular, adiposo y el óseo. Teniendo en cuenta que en la especie caprina la unidad de consumo es un trozo de canal, la composición tisular merece una atención especial (Sañudo y Sierra, 1986), por lo que la calidad tisular se expresará en relación al trozo al cual pertenece (Sañudo, 1980).

Una buena porción donde realizar la calidad tisular será la espalda, ya que puede ser fácilmente separada de la canal sin depreciarla en demasía (Argüello *et al.*, 2001) asegurando unos buenos niveles de precisión en la estimación de la composición tisular de la misma. Si bien, otros autores siguen utilizando la disección de la semicanal completa (Peña *et al.*, 2007) o de otras piezas como la pierna (Sanz Sampelayo *et al.*, 2006; Todaro *et al.*, 2004).

#### **4.6.4.1. Factores de variación de la composición tisular**

##### **4.6.4.1.1. Edad y peso al sacrificio**

Cuando se incrementa el peso de sacrificio de los animales, el tejido muscular aumenta o permanece estable, aumentando también la cantidad de tejido graso (Argüello *et al.*, 2003), al igual que encontraron Marichal *et al.* (2003), mientras que Peña *et al.* (2007) además registraron una disminución en la cantidad de hueso al ir aumentando de peso.

### **4.6.4.1.2. Sexo**

Se espera que el sexo influya en la composición tisular a partir de una edad. Peña *et al.* (2007) observaron una diferencia entre sexos en su grupo de mayor peso (14-15 kg), encontrando que aumentaba el contenido graso total en las hembras, del mismo modo, Santos *et al.* (2008a) encontraron pequeñas diferencias, aunque éstas fueron atribuidas a la corta edad de los animales, esperando unas diferencias más evidentes a una edad más avanzada. Sin embargo, Todaro *et al.* (2004) vieron que las hembras tenían un menor contenido de grasa y mayor de músculo, siendo estas diferencias posiblemente debidas a que estos autores midieron la composición tisular en la pierna.

### **4.6.4.1.3. Alimentación**

Argüello *et al.* (2007) trabajando en lactancia natural frente a lactancia artificial, encontraron una menor cantidad de grasa en los cabritos alimentados con lactorreemplazante a nivel del costillar, bajos, pierna y espalda, así como en la semicanal total.

El uso de aceites ricos en ácidos grasos omega-3 como los aceites de pescado ha sido ampliamente estudiado en relación con la composición tisular, así, Marinova *et al.* (2007) realizando la disección en varios cortes de la canal, encontraron una mayor cantidad de hueso en la pierna de los cabritos suplementados, mayor grasa intermuscular de la espalda y una menor grasa subcutánea del lomo. Navarro *et al.* (2008) no evidenciaron ninguna diferencia entre los cabritos suplementados con aceite de pescado y los cabritos sin dicha suplementación. Similares resultados fueron los de Manso *et al.* (2009) al suplementar corderos con diferentes aceites vegetales.

Por otro lado Sanz Sampelayo *et al.* (2006) suplementando a las cabras con aceite de pescado, y en manejo de lactancia natural obtuvieron unos cabritos con una composición tisular semejante entre tratamientos.

## **4.7. Calidad de la carne**

### **4.7.1. Conversión de músculo en carne**

El proceso de conversión del músculo en carne está compuesto por tres fases (Sentandreu *et al*, 2001): la fase pre-rigor durante la cual el músculo permanece excitable y se correspondería con la fase de supervivencia del tejido nervioso (Chrystall y Devine, 1985); el rigor en la que los componentes energéticos (ATP, fosfocreatina, glucosa) se agotan; y por último, la fase post-rigor de maduración o tenderización de la carne en la que se produce la desestructuración de la arquitectura muscular.

Tras la muerte del animal, va a cesar el aporte sanguíneo de oxígeno y nutrientes al músculo, el cual debe utilizar sus reservas de energía para sintetizar ATP con el fin de mantener su temperatura e integridad estructural. Conforme se reducen los niveles de ATP se genera simultáneamente fosfato inorgánico que a su vez estimula la degradación de glucógeno a ácido láctico mediante la glucólisis anaerobia. La formación de ácido láctico y de otros ácidos orgánicos va a provocar un descenso del pH muscular que continuará hasta que se agoten las reservas de glucógeno o hasta que se inactiven los enzimas que rigen el metabolismo muscular (Lawrie, 1998). Por otra parte, la hidrólisis del ATP también ocasionará un incremento de los iones  $H^+$  en el músculo. Estos contribuyen al descenso del pH *postmortem* en un 10% (Hamm, 1977).

Los cambios que se producen durante este proceso afectarán a las propiedades iniciales del músculo, principalmente a su textura.

### **4.7.2. pH**

Una de las características químicas que más van a influir en los procesos de maduración de carne va a ser el pH, cuyo valor en el músculo vivo ronda la neutralidad (6,7-7,2). Este pH muscular es considerado por muchos autores, como la medida del metabolismo muscular *postmortem* (Newbold y Small, 1985), ya que tras la muerte del animal,

debido a la degradación del glucógeno presente y por tanto a la cantidad de ácido láctico generado, se producirá una acidificación del medio llegando a unos valores finales de entre 5,4 y 5,5 (Garrido y Bañón, 2005). Sin embargo, La caída de pH dependerá a su vez del tipo de fibras predominantes y de la actividad muscular antes del sacrificio. Los músculos con predominio de fibras de contracción rápida (blancas) alcanzarán valores finales de 5.5 mientras que si existe una mayor cantidad de fibras de contracción lenta (rojas) el pH no bajará de 6.3 (Ordóñez *et al.*, 1998).

Un proceso muy importante dentro de la calidad de la carne va a ser la evolución del pH tras el sacrificio, ya que va a tener un profundo efecto sobre las propiedades tecnológicas de la carne. Así, conforme disminuye el pH, la aproximación al punto isoeléctrico de las proteínas miofibrilares va a hacer que las repulsiones electrostáticas entre proteínas disminuyan y la cantidad de agua situada entre las mismas sea cada vez menor. Por otro lado, la baja disponibilidad de ATP impide que se mantenga la integridad estructural de las proteínas, las cuales sufren fenómenos de desnaturalización que reducen aún más la cantidad de agua retenida, afectando al color, la textura y el grado de exudación de la carne (Sellier, 1988).

### **4.7.2.1. Factores de variación del pH**

#### **4.7.2.1.1. Genotipo**

El genotipo es un factor que va a influir en el valor de pH de la carne. Swan *et al.* (1998) observaron diferencias entre el pH del músculo *Longissimus dorsi* entre razas Boer y Cashmere (6 y 5,7 respectivamente) que explicaron por las posibles diferencias debidas a un mal manejo pre-sacrificio de los animales Boer. Por su parte, Álvarez *et al.* (1995), trabajando con cabras de raza Blanca Serrana, observaron valores de pH de 5,9 a 6,2 atribuyendo estos altos valores a elevadas tasas de glucógeno. A los 45 minutos y a las 24 horas en músculo *Longissimus dorsi*, Snell (1996) obtuvo valores de pH de 6,6



y 5,9 respectivamente, en ganado caprino. Mientras que por su parte, Argüello *et al.* (1999) y Marichal *et al.* (2003), trabajando con cabritos de la antigua Agrupación Caprina Canaria, describieron valores de pH de entre 6,5 y 6,2 a los 45 minutos del sacrificio y de 5,8 a las 24 horas post-sacrificio.

Por otro lado Dhanda *et al.*, (2003) analizaron la influencia del genotipo sobre el valor de pH en la carne de cabritos de tres razas diferentes y sus respectivos cruces (Boer, Saanen and Feral). El valor del pH se situó entre 5.7-5.9, lo cual es un valor elevado pero dentro de lo aceptable (Hedrick *et al.*, 1994). Por su parte, Kadim *et al.* (2004) analizaron los valores de pH en la carne de las razas omaníes de cabras en diferentes músculos, encontrando diferencias entre las diferentes razas y los diferentes músculos.

### **4.7.2.1.2. Edad y peso al sacrificio**

Sañudo *et al.* (1998) observaron un pH más alto en corderos sacrificados con 13 Kg de peso canal en comparación con canales de 8 ó 10 Kg, atribuyéndolo al mayor contenido en glucógeno muscular de los animales de más peso. Madruga *et al.* (1999) también encontraron este efecto. Marichal *et al.* (2003) no describieron diferencias en el pH inmediatamente después del sacrificio entre cabritos de 6, 10 y 25 Kg de PVS pero obtuvieron diferencias significativas entre los cabritos de 6 y 25 Kg después de la fase de oreo, aunque no entre los cabritos de 6 y 10 kg, observando similares resultados Argüello *et al.* (2005).

### **4.7.2.1.3. Sexo**

Todaro *et al.* (2004) estudiaron el efecto del sexo sobre el pH en la carne de cabritos de raza 'Nebrodi', registrando un mayor pH en las hembras que en los machos. Por otro lado Hogg *et al.* (1992) no observaron diferencias entre machos castrados y hembras en el pH a las 24 horas post sacrificio, mientras que Madruga *et al.* (1999) utilizando

machos castrados frente a machos enteros, encontraron un pH más bajo en los machos intactos que en los castrados.

### **4.7.2.1.4. Alimentación**

Dietas ricas en energía proporcionan unos valores de pH iniciales y finales menores que las carnes procedentes de corderos que han consumido dietas pobres en energía (Solomon *et al.*, 1986; Abouheif *et al.*, 1995). Este hecho se explica por la menor concentración de carbohidratos en los animales alimentados con dietas bajas en energía, lo que provocaba una glucólisis menos intensa debido a menores reservas de glucógeno (Asghar y Henrickson, 1983). Argüello *et al.* (2005) no observaron diferencias entre cabritos de raza Majorera alimentados con leche de cabra o con sustitutivos lácteos.

En cuanto a dietas especiales, Atti *et al.* (2006) estudiaron la influencia de administrar cactus en el pH de la carne de cabritos, comprobando que el pH fue mayor en los animales del grupo control que en los que recibieron cactus, pudiendo ser debido a un componente del cactus. Mientras que Manso *et al.* (2009) administrando a los corderos diferentes aceites vegetales no encontraron diferencias entre los grupos experimentales ni en el músculo *Longissimus dorsi* ni en el *Semimembranosus*.

### **4.7.2.1.5. Estrés**

El efecto del estrés *antemortem* sobre la caída del pH muscular ha sido ampliamente estudiado en los animales de consumo, siendo por lo general un factor que induce la elevación del pH final de la carne. En el caso particular del ganado caprino Feidt y Brun-Bellut (1996) observaron que la inyección *antemortem* de adrenalina sobre cabritos de raza Alpina, provocaba un incremento en el pH final de 6,3 frente a 5,7 sin dicho tratamiento. Kadim *et al.* (2006) por su parte, analizaron el efecto del transporte sobre los valores del pH en la carne de cabra observando que las cabras transportadas poseían significativamente mayores valores de pH que las no transportadas.

**4.7.3. Capacidad de retención de agua (CRA) y pérdidas de líquido.**

La carne cruda de los mamíferos inmediatamente tras el sacrificio contiene, por término medio, un 75 % de agua (Lawrie, 1991), porcentaje que varía con la especie de procedencia y el músculo que se considere. Tal y como afirma Pla (2001) Parte de esta agua se pierde con el tratamiento de la carne: por evaporación durante el enfriamiento de las canales, por goteo por la sección de tejidos o bien por el cocinado, momento en el cual se puede perder hasta el 40% (Offer y Knight, 1988).

Hamm (1960) define la CRA como la capacidad que tiene la carne para retener su agua constitutiva durante la aplicación de fuerzas extrañas o de algún tratamiento. Sañudo (1992) la define como un parámetro físico-químico y como la capacidad de la carne para retener el agua que ella misma contiene durante la aplicación de fuerzas extrañas como cortes, calentamiento, trituración y prensado, lo cual resulta de gran interés durante su conservación, fileteado, cocinado y transformación.

La CRA es un factor importante en la tecnología y la calidad de la carne, dado que afecta a la carne antes, durante y después del cocinado. Conocer la evolución de las pérdidas de agua que sufre la carne durante la maduración es de gran importancia para conocer la evolución de la jugosidad de la carne (Monin y Ouali, 1991). La mayor parte del agua presente en la carne se encuentra entre los espacios formados por los filamentos gruesos de miosina y los finos de actina/tropomiosina. Este espacio se puede ampliar o reducir en función de factores tales como pH, longitud del sarcómero, fuerza iónica, presión osmótica y del estado del *rigor mortis* (Offer y Trinick, 1983).

**4.7.3.1. Factores de variación de la CRA**

**4.7.3.1.1. Genotipo**

Sañudo *et al.* (1992) no encontraron diferencias entre genotipos ovinos autóctonos para los valores de CRA. Mientras que Lee *et al.* (2008) investigaron las

características nutricionales y la calidad de la carne procedente de cabras y corderos finalizados bajo dietas idénticas utilizaron machos de cabra procedentes del cruce 'Boer x Spanish' no encontrando diferencias estadísticamente significativas en las pérdidas por cocinado entre ambas especies. Esto concuerda con lo encontrado por Sheridan *et al.* (2003), que defendían que las pérdidas por cocinado en corderos y cabritos no se afectaban por la edad de sacrificio ni por la especie.

### **4.7.3.1.2. Edad y peso al sacrificio**

Por un lado se ha observado que la elevación del PVS no afecta a la capacidad de retención de agua en corderos (Solomon *et al.*, 1980; Sañudo *et al.*, 1996). Sin embargo, otros autores (Hawkins *et al.*, 1985; López, 1987) observaron una ligera disminución de la CRA con el incremento del PVS.

En ganado caprino perteneciente a la antigua Agrupación Caprina Canaria, Marichal *et al.* (2003) observaron una reducción en la CRA al elevar el PVS de 6 a 25 Kg, acompañada de una reducción del valor de pH a las 24 horas tras el sacrificio. Sin embargo Argüello *et al.* (2005) en la misma raza no encontraron dichas diferencias en la CRA, entre cabritos de 6 y 10 Kg de PVS.

### **4.7.3.1.3. Sexo**

La capacidad de retener agua por parte de la carne de cordero parece no verse afectada por el sexo, como así lo demostraron Horcada *et al.* (1998) en corderos de dos razas distintas, manifestándose en igual sentido Sañudo *et al.* (1998). Mientras que López (1988) y Ruiz de Huidobro *et al.* (1998), explican la menor capacidad de retención de agua en las hembras encontrada por su mayor grado de engrasamiento; sin embargo, Santos-Silva *et al.* (2002) detectaron una relación positiva entre engrasamiento y capacidad de retención de agua.

### **4.7.3.1.4. Alimentación**

Para la misma raza de este estudio, Argüello *et al.* (2005) describieron unas pérdidas de líquido de 0,47 g para animales alimentados con sustituto de leche, mientras que en los animales que fueron alimentados con leche de cabra encontraron valores de 0,59 g. Por otro lado, Santos-Silva *et al.* (2002) encontraron que los animales que pastaban poseían una mayor CRA que aquellos suplementados o estabulados.

### **4.7.3.1.5. Músculo**

Se ha encontrado que hay diferencias en la capacidad de retención de agua debido al tipo de músculo expuesto al análisis. Muestra de ello es el análisis llevado a cabo por Cano *et al.* (2003) donde encontraron que la capacidad de retención de agua difería significativamente entre músculos, coincidiendo con lo registrado por Forcada (1985) y Alcalde (1995), en corderos.

Mientras que en cabritos, Marichal *et al.* (2003) observaron valores del mismo rango para los músculos *Longissimus* y *Triceps barchii*, mientras que para el *semimembranosus* fue mayor, en el mismo sentido que Argüello *et al.* (2005).

### **4.7.3.1.6. pH**

La relación entre el pH y la CRA está basada en la capacidad de las proteínas de establecer puentes de hidrógeno con el agua siempre y cuando se encuentre alejada de su punto isoeléctrico. Así, Gou *et al.* (2002) señalaron que el pH a las 24 horas *postmortem* tenía cierta correspondencia con la CRA, ya que al unirse las proteínas musculares de actina y miosina, la estructura miofibrilar se va cerrando, dejando menos espacio disponible para el agua. A este fenómeno se añade que, cuando el pH se aproxima al punto isoeléctrico de las proteínas, éstas poseen menos cargas eléctricas y la capacidad de retención de agua se hace mínima. En adición a lo anteriormente expuesto, Hamm (1977) observó que pequeñas variaciones del pH (5,5-6,5) producían

grandes cambios en la CRA. Sin embargo, Bouton *et al.* (1971) observaron que diferencias de pH comprendidas entre 5,5 y 5,9 estaban escasamente correlacionadas con los valores de CRA.

### **4.7.4. Pérdidas por cocinado**

La mayoría del agua del músculo (entre un 90-95%) se mantiene dentro de las miofibrillas, por lo que cualquier cambio dentro de este espacio afectará a la movilidad del agua dentro de la estructura de la carne (Christersen *et al.*, 2011), por lo que las pérdidas por cocinado se encontrarán condicionadas por las modificaciones de las proteínas en su estructura tridimensional. El tipo de cocinado también influirá en estas pérdidas en función de la temperatura, presencia de agua, calor directo, tamaño, grosor y preparación previa de la pieza (Sierra, 1977).

#### **4.7.4.1. Factores que influyen en las pérdidas por cocinado**

##### **4.7.4.1.1. Genotipo**

Lee *et al.* (2008) no observaron diferencias entre especies al comparar ovino con caprino, en el mismo sentido que Sheridan *et al.* (2003), mientras que Santos *et al.* (2008a) reportaron unas mayores pérdidas en cordero que en cabritos. Por otro lado, Sañudo *et al.* (1997) no encontraron diferencias entre diferentes especies de ovino españolas

##### **4.7.4.1.2. Sexo**

Todaro *et al.* (2004) encontraron diferencias entre sexos en las pérdidas por cocinado, siendo mayores en el caso de las hembras, y relacionándolo con una diferencia en el contenido de grasa del músculo. Sin embargo, Santos *et al.* (2008a) no encontraron tales diferencias entre sexos.

### **4.7.4.1.3. Alimentación**

Radunz *et al.* (2009) suplementando corderos con un aceite rico en ácido grasos poliinsaturados, no encontraron diferencias en cuanto a las pérdidas por cocinado entre tratamientos ni antes ni después del destete.

### **4.7.5. Color instrumental**

El color de la carne, condicionado por la cantidad y el estado químico de la mioglobina (Lawrie, 1966), es el principal factor que influye en la elección de una carne u otra por parte del consumidor, siempre y cuando éste no pueda olerla (Renner, 1982; Miltenburg *et al.*, 1992; Sañudo y Sierra, 1993), acentuándose, cada vez más, la importancia del color de la carne en un mercado que incrementa, día tras día, la comercialización de ésta en bandejas. Según Sañudo y Sierra (1993) tres van a ser los factores que determinan el color de la carne: la cantidad de pigmento existente, el estado químico del pigmento de la carne y el estado físico de la carne.

El color definido por la norma CIE (Commission International d'Eclairage) incluye los siguientes parámetros o planos cromáticos de coordenadas, donde  $a^*$  representa en sus valores positivos tonos rojos y negativos en tonos verdes y la  $b^*$  representa en sus valores positivos tonos amarillos y negativos en tonos azules, situándose perpendicular a ellos el eje L (luminosidad) de acuerdo con Wyszecki y Stiles (1982). Por último, el valor de  $C^*$  (Chroma o cromatismo) representa el módulo o longitud del vector determinado por las coordenadas  $a^*$  y  $b^*$  y el valor de  $H^\circ$  (ángulo Hue) la rotación del mismo sobre el eje x.

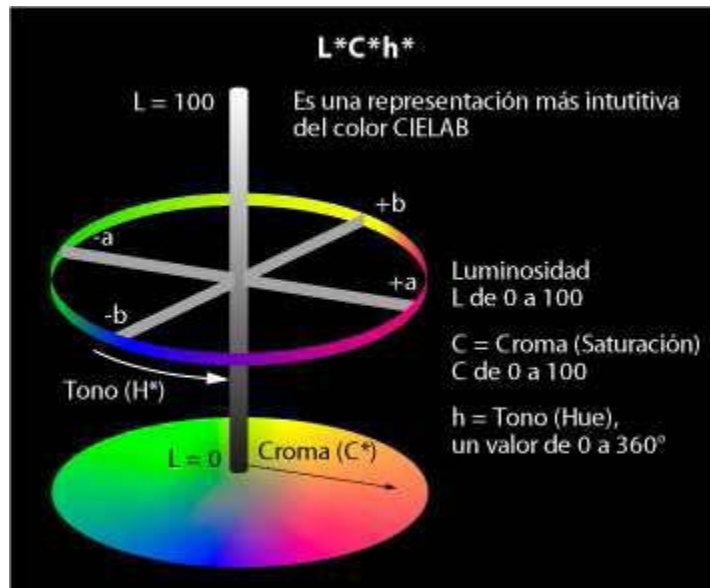


Fig.3. Representación espacial de los parámetros L, a\*,b\*, C\* y H°.

#### **4.7.5.1. Factores de variación del color instrumental.**

##### **4.7.5.1.1. Genotipo**

En corderos de diferentes razas autóctonas españolas, Sañudo *et al.* (1992) observaron que los animales de raza Rasa Aragonesa presentaban carnes más claras que otros genotipos, coincidiendo con menores valores de pigmentos hemínicos.

Comparando especies cárnicas con especies de aptitud lechera, Juárez *et al.* (2009) describieron que los ovinos de carácter lechero poseen carnes más rojas y menos amarillas que los ovinos de aptitud cárnica y Martínez-Cerezo *et al.* (2005), que observaron cómo los ovinos de razas cárnicas, tales como el Merino y la Rasa Aragonesa, presentaban carnes con menores valores de L (43,1) que los ovinos de carácter lechero (47,3), tales como la Churra.

Ripoll *et al.* (2011), trabajando con cabritos de diferentes razas con aptitud cárnica, observaron que el genotipo tiene una gran influencia sobre el color amarillo, algo que también ha sido atribuido a cambios en la cantidad de glucógeno, ya que el parámetro b\* detecta las variaciones de pH (Abril *et al.*, 2001). Sin embargo el rojo



suele estar más relacionado con la cantidad de pigmento, aunque también se debería de tener en cuenta las diferencias entre razas en alcanzar la madurez (Ripoll *et al.*, 2011).

### **4.7.5.1.2. Edad y peso al sacrificio**

Está generalmente aceptado que con el incremento del PVS las carnes se oscurecen y aumentan los tonos rojizos siendo menos pálidas (Bañón *et al.*, 2006), como así sucedió al comparar lechales de raza Lacha (5,8 Kg de peso canal) con animales de un mayor peso, tales como ternascos de la raza Rasa Aragonesa con 10,6 Kg de peso canal (Horcada *et al.*, 1998). En este sentido Sañudo *et al.* (1996) trabajando con corderos de 8 a 13 Kg de peso canal, explicaron las diferencias encontradas por una distinta alimentación, al sustituirse la alimentación láctea por el consumo de concentrado. Marichal *et al.* (2003) describieron diferencias en los valores de L en cabritos sacrificados con 25 Kg de peso vivo con respecto a cabritos de 10 y 6 kg, no hallando diferencias significativas entre estos dos últimos grupos de animales, mientras que Argüello *et al.* (2005) sí observaron diferencias en la luminosidad entre cabritos de 6 kg y cabritos de 10 kg, disminuyendo con el aumento del peso. Por otro lado, Peña *et al.* (2007) también observaron diferencias en cabritos sacrificados a los 7-8, 10-11 y 14-15 kg, encontrando que a medida que aumentaba el peso al sacrificio, las carnes eran menos pálidas y más rosas.

### **4.7.5.1.3. Sexo**

En ganado ovino de raza Rasa Aragonesa, Sañudo *et al.* (1998) observaron que el sexo provocaba diferencias en el color y también en el contenido de pigmentos hemínicos, lo cual justifica las diferencias encontradas. Por el contrario, Horcada *et al.* (1998) trabajando con animales de la misma raza no las encontraron, si bien no obtuvieron variación en la cantidad de mioglobina por gramo de carne.

Peña *et al.* (2007) encontraron diferencias entre sexos con un bajo peso de sacrificio, mientras que a mayor peso desaparecieron, mientras que Santos *et al.* (2008a) no observaron diferencias en el color entre sexos ni en cabritos ni en corderos.

### **4.7.5.1.4. Alimentación**

Las cabras con mejor condición corporal presentaron carnes con mayores índices de rojo a la par de una menor luminosidad (Sañudo *et al.*, 1995). Dicho fenómeno se atribuyó a la alimentación de los animales, dado que los que tienen más reservas son, en general, los que más consumen y por tanto los que poseen mayores tasas de pigmentos hemínicos. Argüello *et al.* (2005) encontraron diferencias significativas entre animales alimentados con leche de cabra y alimentados con lactorreemplazante en lo que hace referencia al parámetro Cromo, como Bañón *et al.* (2007) que encontraron que los cabritos alimentados con lactorreemplazante presentaban colores menos rojos.

Manso *et al.* (2009) trabajando con corderos suplementados con varios aceites vegetales, no encontraron relación con el color, mientras que Radunz *et al.* (2009) suplementado con ácido grasos poliinsaturados vieron un aumento de la luminosidad y de  $a^*$ , así como una tendencia al aumento en la coordenada  $b^*$  en los corderos suplementados.

### **4.7.5.1.5. Músculo**

El músculo sobre el cual se mide el color es responsable de casi la mitad de la variación en el color de la carne. Hood (1980), consideró al músculo *Longissimus dorsi* como uno de los músculos con mayor estabilidad y al *Psoas mayor* como uno de los menos estables. Klont *et al.* (1998) observaron que la estabilidad del color no se debía exclusivamente al contenido en mioglobina, sino que por el contrario, el músculo sobre el que se medía parecía tener un mayor efecto sobre el mismo con independencia de la cantidad de mioglobina que posea el animal. Así, Argüello *et al.* (2005) describieron en

animales de 10 kg de PVS valores para L de 47,9, 51,2 y 52,8 justo después del sacrificio para los músculos *Longissimus dorsi*, *Tríceps braquii* y *Semimembranosus* respectivamente y valores de 52, 55,5 y 50,5 de la coordenada L para los mismos músculos después del oreo, valores semejantes a los anteriormente reportados por Marichal *et al.* (2003) en la misma raza.

### **4.7.5.1.6. pH**

El pH final tiene un claro efecto sobre el color, encontrándose que el valor del Chroma se incrementa cuando el pH se acerca a 6, mientras que permanece constante entre 6 y 7 (Ripoll *et al.*, 2011), aunque Argüello *et al.* (2005) no encontraron ninguna correlación entre estos dos valores entre 5,49 y 5,82.

### **4.7.6. Terneza**

La terneza de la carne se puede definir como la facilidad con que la carne se puede cortar y masticar. A ella contribuyen las proteínas miofibrilares y sarcoplásmicas, la naturaleza y contenido en colágeno y la riqueza en grasa infiltrada (Tornberg, 1996). Para los consumidores, va a ser uno de los atributos más importantes de la carne, estando incluso por delante del aroma o del color (Lawrie, 1998).

#### **4.7.6.1. Factores de variación que afectan a la terneza**

##### **4.7.6.1.1. Genotipo**

Las diferencias en la terneza debidas a las diferentes razas han sido ampliamente estudiadas. Así, mientras que unos autores como Swan *et al.*, (1998) encontraron diferencias trabajando con cabras Boer y Cashemire, muchos otros como Johnson *et al* (1995) en cabras o Sañudo *et al.* (1992) o Costa *et al.* (2009) en corderos, no encontraron diferencias significativas entre razas.

Por otro lado, Santos *et al.* (2008a) vieron una diferencia entre la ternura de los cabritos frente a los corderos, siendo estos últimos más duros, algo que Lee *et al.* (2008) reportaron en sentido inverso, posiblemente debido a las diferentes razas utilizadas.

### **4.7.6.1.2. Edad y peso al sacrificio**

Marichal *et al.* (2003) trabajando a unos pesos de sacrificio de 6, 10 y 25 kg, observaron que a mayor peso se producían carnes más duras, algo que Argüello *et al.* (2005) no encontraron trabajando en animales de 6 y 10 kg. Sin embargo, este aumento de la dureza puede estar relacionado con diferencias en el área de la fibra (Crouse *et al.*, 1991), algo que en animales más pequeños no se aprecia.

### **4.7.6.1.3. Sexo**

Todaro *et al.* (2004) no encontraron diferencias entre sexos, al igual que Santos *et al.* (2008a). Sin embargo, con animales más grandes, sí que se han visto diferencias entre sexos, siendo las carnes de las hembras menos duras que las de los machos, enteros o castrados (Hogg *et al.*, 1992; Johnson *et al.*, 1995), atribuyéndose a una mayor cobertura grasa de las hembras que les permitiría mantener unas menores temperaturas en su interior y por tanto una mayor cantidad autolítica.

### **4.7.6.1.4. Alimentación**

Argüello *et al.* (2005) observaron diferencias en cabritos alimentados en lactancia natural frente a los alimentados con un lactorreemplazante, siendo carnes más tiernas las procedentes de animales alimentados con leche de cabra. Estas diferencias fueron atribuidas a una mayor edad de los animales alimentados con lactorreemplazante, y a que pueden haber consumido más pienso de arranque, como ya observaron anteriormente Pisula *et al.* (1994).

Por otro lado, Radunz *et al.* (2009) no encontraron diferencias en corderos suplementados con aceite de alto contenido en ácidos grasos poliinsaturados ni antes ni después del destete.

### **4.7.6.1.5. Electro-estimulación**

Una técnica ampliamente utilizada para aumentar la ternura de las carnes es la electro-estimulación. La electro-estimulación mejora la calidad de la carne acelerando la glicólisis y la bajada del pH, mientras que físicamente daña las miofibrillas y mejora la degradación de las proteínas del músculo (Hwang *et al.*, 2003). Así han sido varios los estudios en cabra como Kadim *et al.* (2010) y Cetin y Topcu (2009), quienes han visto mejorada la resistencia al corte mediante el uso de esta técnica.

### **4.7.7. Composición química**

La composición química de los músculos reporta información muy relevante en lo que a la calidad de la carne concierne. Su relevancia se debe, por un lado, a que la carne es un componente importante de la dieta humana, ya que aporta un amplio rango de nutrientes: proteínas, grasas, agua, minerales, vitaminas, etc. Por otro lado, la composición química de la carne tiene importancia porque afecta a la calidad tecnológica, higiénica, sanitaria y sensorial (Oliván *et al.*, 2001). En términos generales, se puede decir que la carne contiene un 75 % de agua, 21 a 22 % de proteínas, 1 a 2 % de grasa, 1 % de sustancias minerales u menos del 1 % de hidratos de carbono (Sañudo *et al.*, 1999).

#### **4.7.7.1. Humedad**

La determinación de la humedad es uno de los análisis más importantes debido a que va a indicar el contenido en materia del producto y va a influir mucho en la calidad microbiológica del mismo.

### **4.7.7.2. Proteína**

Las proteínas musculares son el componente sólido que en mayor proporción se encuentra en el tejido muscular, constituyendo aproximadamente el 80% de su peso seco. Básicamente las proteínas se pueden clasificar en miofibrilares y citoplasmáticas, contribuyendo ambas a la calidad de la carne y en especial a la terniza. Las proteínas miofibrilares son las responsables de la contracción y relajación del músculo durante la vida del animal, y a su vez las responsables de la aparición del principal proceso postmortem en la carne, el *rigor mortis*. Las proteínas miofibrilares se agrupan para formar la unidad estructural y funcional del músculo, el sarcómero, mientras las proteínas citoplasmáticas son las responsables, entre otros, del proceso de maduración.

### **4.7.7.3. Cenizas**

Se denomina así a la materia inorgánica que forma parte constituyente de los alimentos (sales minerales). Las cenizas de la carne están compuestas por el residuo inorgánico que queda tras la combustión controlada de la materia orgánica. Estas cenizas están formadas principalmente por Calcio, Hierro, Iodo, Magnesio, Zinc, Selenio, Potasio, Sodio y Fósforo. Se trata de un parámetro altamente estable.

### **4.7.7.4. Grasa intramuscular**

La cantidad de grasa intramuscular o de infiltración, reflejada en el grado de vetado o marmoreado de la carne, es uno de los factores determinantes de la jugosidad y de la palatabilidad de la misma (Savell *et al.*, 1986), ya que favorece el flujo salivar durante la masticación (Tuma *et al.*, 1962). Por el contrario, existe una controversia acerca de su relación con la terniza, dado que algunos autores han observado una correlación entre ésta y la terniza (Tatum *et al.*, 1982; Savell *et al.* 1986) mientras otros no encuentran la citada correlación (Wheeler *et al.*, 1989).

### **4.7.7.5. Colágeno**

El tejido conjuntivo de la carne está compuesto principalmente de elastina, colágeno, reticulina y complejos proteicos de mucopolisacáridos. El colágeno es una proteína fibrosa de estructura molecular compleja, que se relaciona con la dureza (Bailey *et al.*, 1982). Las fibras de colágeno están formadas por fibrillas, de las cuales la molécula de tropocolágeno es la unidad básica. La cantidad de colágeno total tiene una escasa relación con la terneza (Goll *et al.*, 1963) estando más relacionado con esta última la solubilidad del colágeno (Hill, 1966), como así lo afirman Cross *et al.* (1973) al corroborarlo con la valoración de un panel sensorial. Sin embargo, para Young y Braggins (1993) la concentración de colágeno es más determinante en la valoración de la terneza de carne ovina por un panel sensorial, mientras que la solubilidad está más relacionada con la fuerza de corte.

### **4.7.7.6. Factores de variación que afectan a la composición química**

#### **4.7.7.6.1. Genotipo**

Lee *et al.* (2008) comparando carne de cabrito o de cordero, no encontró diferencias ni en humedad, ni en proteína ni en grasa, pero sin embargo sí que encontró diferencias en cuanto a las cenizas, con un mayor valor para el caprino, mientras que Tshabalala *et al.* (2003) habían encontrado mayores cantidades de humedad y una menor cantidad de grasa en caprino.

Por otro lado los resultados reportados por Santos *et al.* (2008b) para la raza “Cabrito del Barroso” contienen un mayor valor de grasa intramuscular que los reportados para la Agrupación Caprina Canaria (Argüello *et al.*, 2005).

#### **4.7.7.6.2. Edad y peso al sacrificio**

Marichal *et al.* (2003) observaron que durante el crecimiento se producía un aumento de la proteína y la grasa, por lo que la humedad disminuía, algo encontrado

también por Argüello *et al.* (2005). Sin embargo, Hogg *et al.* (1989, 1992) habían observado un aumento de la cantidad de grasa del 240% al pasar de animales sacrificados en torno a los 10 kg a los 15 kg, resultados acordes con el mayor contenido en grasa encontrado por Sanz Sampelayo *et al.* (2003). Por otro lado, lo tradicionalmente aceptado: los animales jóvenes poseen una mayor cantidad de agua y menos proteína (Bañón *et al.*, 2006).

### **4.7.7.6.3. Sexo**

Todaro *et al.* (2004) no vieron diferencias entre los sexos en ninguna de las variables químicas analizadas. Mientras que Madruga *et al.* (2001) observaron que la cantidad de grasa era mayor en los machos castrados que en los intactos.

### **4.7.7.6.4. Alimentación**

Argüello *et al.* (2005) comparando animales alimentados bajo lactancia natural frente a animales alimentados con un lactorreemplazante, no encontraron diferencias en ninguno de los parámetros medidos de composición química, mientras que Bañón *et al.* (2006) encontraron una mayor cantidad de humedad y menos proteína en los animales alimentados con lactorreemplazante.

Por otro lado Sanz Sampelayo *et al.* (2003), utilizando diferentes cantidades de materia seca en el lactorreemplante, encontraron que una alta cantidad de materia seca conllevaba a mayores valores de materia seca y grasa, mientras que el contenido en cenizas fue menor.

Manso *et al.* (2009) no encontraron diferencias en corderos alimentados con diferentes aceites vegetales en ninguno de los parámetros medidos.



### **4.7.8. Perfil de ácidos grasos**

La composición de ácidos grasos de la carne está relacionada con aspectos tecnológicos de la carne con referencia a su consumo (terneza, firmeza, punto de fusión, estabilidad frente a la oxidación). Mientras que por otra parte también interesa desde el punto de vista de obtener una carne saludable, especialmente el grado de saturación de la misma (Wood *et al.*, 2003).

El alto contenido de lípidos saturados de la leche y la carne de los rumiantes es consecuencia del particular metabolismo del rumen, aunque por otro lado, ésta es la misma causa de que estos animales produzcan de forma natural CLA, el cual tiene reconocidos efectos beneficiosos para la salud (Enser, 1999).

#### **4.7.8.1. Factores de variación que afectan al perfil de ácidos grasos**

##### **4.7.8.1.1. Genotipo**

Tanto en corderos como en cabritos, los ácidos grasos mayoritarios en la grasa intramuscular son el palmítico (C16:0), esteárico (C18:0) y el oleico (C18:1n9), aunque encontrándose diferencias entre sus cantidades en cada especie (Lee *et al.*, 2008). Demirel *et al* (2004) encontraron diferencias en la deposición de los ácidos grasos en corderos de las razas Suffolk x Lley y Scottish Blackface. Según Banskalieva *et al.* (2000) se encuentran diferencias considerables entre las diferentes razas estudiadas de caprino, sin embargo, también se han encontrado diferencias en la composición de ácidos grasos entre animales de la misma raza.

##### **4.7.8.1.2. Sexo**

Todaro *et al.* (2004) no encontraron diferencias en cuanto al perfil de ácidos grasos con respecto al sexo, al igual que Rojas *et al.* (1994) en grasa de riñón, mientras que Johnson *et al.* (1995) y Matsouka *et al.* (1997) habían encontrado que los niveles de

ácidos grasos poliinsaturados y el ratio PUFA/SFA era mayor en machos que en hembras. Si bien, como dijeron Banskalieva *et al.* (2000) las diferencias con respecto al sexo encontradas en la bibliografía son inconsistentes.

### **4.7.8.1.3. Alimentación**

Bañón *et al.* (2006) observaron diferencias, en cabritos alimentados con leche de cabra o con lactorreemplazante, a nivel de los ácidos grasos de la grasa perirrenal en todos los ácidos grasos analizados, encontrando que los cabritos alimentados con leche de cabra contenían una mayor cantidad de ácidos grasos saturados y menor cantidad de insaturados atribuyéndolo a la grasa vegetal que es utilizada en estos lactorreemplazantes, que en este caso fue aceite de coco la cual es rica en ácido láurico (C12:0) el cual posee propiedades digestivas además de no acumularse en el tejido adiposo (Rojas *et al.*, 1994).

Yeom *et al.* (2002) observaron que al administrar diferentes lactorreemplazantes con diferentes cantidades de  $\alpha$ -linolénico y ácido linoléico, se generaba un aumento lineal de los contenidos de estos ácidos grasos en los ácidos grasos de los tejidos adiposos, incorporándose más eficientemente el ácido linoléico. Navarro *et al.* (2008), al trabajar con cabritos a los que se les había añadido al lactorreemplazante aceite de pescado o no, encontraron que el grupo suplementado tenía un mayor contenido de ácidos grasos poliinsaturados omega-3 y una menor cantidad de ácidos grasos saturados en grasa intramuscular, subcutánea e intermuscular, aunque para las dos últimas el contenido en omega-3 fue menor que en la grasa intramuscular, debido a que estos ácidos grasos se incorporan a nivel de los fosfolípidos, que están en una mayor proporción en el músculo (Ashes *et al.*, 1992; Scollan *et al.*, 2001). Resultados semejantes encontraron Sanz-Sampelayo *et al.* (2006) bajo lactancia natural y suplementando a las madres con este aceite de pescado.

#### **4.7.9. Análisis sensorial**

El análisis sensorial se define como el estudio de los caracteres sensoriales de un alimento. El análisis sensorial se usa como instrumento de medida de los sentidos de la vista, olfato, gusto, tacto y oído. Aunque analizando la composición química de los alimentos, junto con sus propiedades físicas, se puede obtener información sobre la naturaleza del estímulo que el consumidor percibe, cuando se quiere evaluar la calidad sensorial de un alimento, es decir, el resultado de las sensaciones que experimentan los consumidores, el mejor camino es preguntárselo a ellos mismos (Beriaín y Lizaso., 1997).

##### **4.7.9.1. Factores de variación que afectan al análisis sensorial**

###### **4.7.9.1.1. Genotipo**

El genotipo Whipple *et al.* (1990) y Koohmaraie *et al.* (1995) observaron que la ternura sensorial no estaba relacionada con la especie. Por su lado, aunque Vatensever *et al.* (2000) por una parte registraron grandes diferencias en los perfiles de ácidos grasos de las vacas de cruces de Charolais y de Holstein-Friesian y Welsh Black Steers, sólo encontraron diferencias en la dureza de sus carnes utilizando el perfil sensorial. Mientras que Kor y Keskin (2011) observaron que para las cabras de la raza Angora y de pelo, los principales atributos que las definían eran diferentes.

###### **4.7.9.1.2. Edad y peso al sacrificio**

Rodrigues y Teixeira, (2009) encontraron que aunque la denominación de origen del Cabrito Transmontano incluye animales sacrificados entre los 4 y los 9 kg, hay un claro efecto del peso al sacrificio en la percepción de los panelistas, ya que estos encontraron que las canales más ligeras eran más tiernas y con una menor intensidad de flavor y olor que las pesadas. Por otro lado, Whipple *et al.* (1990) y Koohmarie *et al.* (1995) concluyeron que la ternura sensorial está relacionada con el peso de la canal.

### **4.7.9.1.3. Sexo**

Rodrigues y Teixeira, (2009) estudiaron la influencia del sexo en la calidad sensorial del Cabrito Transmontano, encontrando que el sexo tenía una clara influencia sobre atributos como la jugosidad, el flavor y la aceptabilidad por parte del consumidor, observando unos mejores valores para los machos que para las hembras. Estos resultados fueron observados también por Johnson *et al.* (1995), quienes además encontraron que la castración influye en el olor y flavor a carne.

Kor y Keskin (2011) observaron que el sexo tiene un efecto moderado en la textura, la aceptabilidad y el olor para cabras de la raza Angora, mientras que para las cabras nativas de pelo el sexo tenía un pequeño efecto en el color.

### **4.7.9.1.4. Alimentación**

Resconi *et al.* (2010) trabajando con terneros alimentados con pasto suplementado o no o bien con concentrado más alfalfa, encontraron que los animales que habían sido alimentados con concentrado más paja producían una carne de peor calidad sensorial debido a que los sabores extraños eran más pronunciados y eran más duras.

Por otro lado, Vatensever *et al.* (2000) en carne de vaca proveniente de animales cuyas dietas diferían en la composición de ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (aceite de lino, aceite de pescado o ambas) observaron que se aumentaban los ácidos grasos omega-3 y con ello aumentaron las notas a pescado, rancias y disminuyendo la valoración general. Nute *et al.* (2007) encontraron en corderos alimentados con diferentes tipos de aceites, que en las dietas que contenían aceite de pescado había un incremento del flavor a pescado en las carnes, especialmente cuando se encontraban en combinación de algas marinas, encontrando además que se trataban de carnes menos estables debido al aumento de PUFA de cadena larga (C20-C22), lo que hace que

amente considerablemente la oxidación lipídica. Díaz *et al.* (2011) por su parte, encontraron que diferentes dietas ricas en ácidos grasos poliinsaturados omega-3 diferían tanto en el olor como en el flavor. Las carnes de corderos suplementados con aceites de pescado, presentaron olores a rancio, olor y flavor a pescado y el peor valor en cuanto a percepción general, atribuyéndolo a que los ácidos grasos omega-3 son más susceptibles a la oxidación.

### **4.8.Estado inmune**

#### **4.8.1. Inmunoglobulinas**

Las inmunoglobulinas son las glucoproteínas de mayor peso molecular y de cuya síntesis se encargan las células del sistema retículo endotelial. Son las principales responsables de la denominada inmunidad humoral, que es aquella que no está mediada por células.

Las inmunoglobulinas pueden clasificarse atendiendo a diversos aspectos, tales como su movilidad electroforética, su peso molecular y su estructura antigénica, siendo aquella que atiende a los diferentes epítomos (antígenos de las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas) la principal elegida actualmente. En este sentido se diferencian diferentes isotipos entre los que se encuentran las inmunoglobulinas G, M y A (IgG, IgM e IgA respectivamente) y otras inmunoglobulinas de menor importancia (IgD, IgE) (Alberts *et al.*, 1986). Todos los mamíferos tienen IgG, IgM e IgA. Las características de los distintos isotipos son iguales en todas las especies, pero el número y tipo de los subisotipos varía según la especie animal a la que se haga referencia.

### **4.8.1.1. Inmunoglobulina G (IgG)**

La IgG es el principal isotipo de inmunoglobulina y el que se encuentra en mayor concentración en el suero sanguíneo, desempeñando el papel más importante en cuanto a los mecanismos de defensa mediados por anticuerpos (Tizard, 1992).

La IgG posee una estructura de un peso molecular relativamente pequeño (160 kD) y que está formada por cuatro cadenas, dos ligeras y dos pesadas. Debido a su relativo pequeño tamaño puede escapar del torrente circulatorio con el fin de alcanzar los espacios tisulares y las superficies celulares con mayor rapidez.

La IgG se puede subdividir en dos subisotipos (IgG1 e IgG2) diferenciables mediante el uso de métodos electroforéticos (Meckenzie, 1970; Butler *et al.*, 1971; Kehoe, 1971). La IgG1 presenta un tipo de transporte selectivo, mientras que la IgG2 lo realiza por medio de la difusión pasiva (Lascelles *et al.*, 1980). Los subisotipos que se localizan en el calostro, presentan un origen sanguíneo. Así, Castro *et al.* (2006) encontraron que la concentración de IgG sanguínea, en cabras de raza Majorera, descendía un 38,7% durante los dos últimos meses de gestación.

### **4.8.1.2. Inmunoglobulina M (IgM)**

Esta inmunoglobulina es la segunda más abundante en mamíferos después de la IgG y es la más grande en cuanto al tamaño (900 kDa). Está compuesta por la unión de cinco monómeros más otro más pequeño rico en cisteína llamado cadena J, el cual le va a permitir unirse a los receptores presentes en las superficies de las células y difundir a través de los epitelios. Sin embargo, las moléculas encontradas en el calostro de IgM, a diferencia de las IgG son producidas a nivel local (Lascelles *et al.*, 1980).

### **4.8.1.3. Inmunoglobulina A (IgA)**

La IgA se encuentra casi exclusivamente en secreciones del organismo, tales como el calostro, la leche, la saliva, las lágrimas o simplemente, quedan fijadas en la superficie epitelial de las mucosas. Tiene un peso molecular de 360 kDa y se encuentra constituida por un dímero, que tiene incorporada al igual que la IgM, la cadena J. Al igual que ocurre con la IgM, es también producida localmente.

### **4.8.1.4. Otras inmunoglobulinas**

Se trata de inmunoglobulinas de menor importancia debido a que se sintetizan en muy pequeñas cantidades. Actúan fundamentalmente como anticuerpos ligados a membranas (Tizard, 1992). La IgE es producida y secretada por las células plasmáticas del tejido conjuntivo de la dermis; la IgD, si bien, no ha sido detectada en todos los mamíferos, se ha identificado en bovinos, ovinos, cerdos, primates, roedores y perros (Gutiérrez, 2007).

### **4.8.1.5. Transferencia de inmunidad pasiva**

El tipo de placenta presente en los ungulados, no permite el paso de inmunoglobulinas desde la madre hacia el feto (Brambell, 1970). Por ello, el consumo de calostro es indispensable para la obtención de una protección inmunológica fundamental para la supervivencia de los neonatos.

Son varios los autores que han afirmado que los cabritos en el momento del nacimiento son agammaglobulinémicos (Constant *et al.*, 1994; Argüello, 2000; Castro, 2005), si bien para otros existen al nacimiento en el suero sanguíneo pequeñas concentraciones de IgG (Guerrault, 1990; Rabbani *et al.*, 1990; Sherman *et al.*, 1990; Rodríguez *et al.*, 2009), atribuyéndose estas diferencias a las técnicas usadas en la medida.

El mecanismo de absorción de macromoléculas en el recién nacido se realiza mediante pinocitosis en el lumen intestinal y por pinocitosis inversa en la zona basal de la célula. Las moléculas son vehiculadas por la circulación linfática hasta el conducto torácico (Krahenbuhl y Campiche, 1969; Yoffey y Courtice, 1970). La duración de la permeabilidad intestinal para el paso de inmunoglobulinas es muy breve en ungulados, siendo ésta entre 24 y 48 horas (McCarthy y McDougall, 1953; Pierce, 1955; Lecce y Morgan, 1962; Jeffcott, 1971; Castro-Alonso *et al.*, 2008).

En un estudio realizado recientemente por Castro-Alonso *et al.* (2008), se relaciona la apoptosis de los enterocitos y el nivel de transferencia de inmunidad pasiva en cabritos de raza Majorera, observando que un mayor nivel de apoptosis se corresponde con un mayor grado de absorción de IgG.

### **4.8.1.6. Comienzo de la síntesis endógena de inmunoglobulinas**

Escasos trabajos han tratado la producción endógena de inmunoglobulinas, por lo que aún no está bien definido. Logan *et al.* (1972) encontraron una posible relación entre las inmunoglobulinas presentes en el calostro y la producción endógena de las mismas, de forma que terneros alimentados con un calostro rico en inmunoglobulinas comenzaban su síntesis a las 4 semanas de vida, mientras en terneros agammaglobulinémicos comenzaba pocos días después de su nacimiento. Asimismo, Logan y Pearson (1978) trabajando con terneros que no consumían calostro hallaron que en las placas de Peyer del intestino delgado de estos animales se producían Ig a los pocos días de vida, no encontrándose dicho proceso en animales encalostrados. Roy (1990) por su parte también observó dicha producción de inmunoglobulinas en terneros mal encalostrados hacia los diez días de vida, mientras que en aquellos con un buen encalostrado ocurría más tarde.



### **4.8.1.7. Factores de variación que afectan la concentración de inmunoglobulinas**

#### **4.8.1.7.1. Encalostrado**

Argüello *et al.* (2004) realizaron un experimento con diferentes formas de encalostrar cabritos: lactancia natural, a mano recibiendo calostro ad libitum y a mano con una cantidad de calostro restringida, no encontrándose diferencias entre los grupos a lo largo de sus primeras 84 horas de vida.

Uno de los mayores factores que afectan la concentración de inmunoglobulinas en los cabritos en cuanto al encalostrado se refiere, es la calidad del calostro, es decir, la propia concentración de inmunoglobulinas que posea el calostro. En este sentido, Castro *et al.* (2005) encontraron una mayor concentración de IgG en cabritos encalostrados con un calostro con un alto nivel de inmunoglobulinas. En el mismo sentido, Rodríguez *et al.* (2009) registraron unos mayores niveles de IgG, IgM e IgA en cabritos encalostrados con una alta cantidad de IgG, observando además una dependencia de la dosis, a mayor cantidad de inmunoglobulinas en el calostro, mayor cantidad en el suero.

Por otro lado, se ha visto que es importante el método de conservación del calostro que se hace en lactancia artificial. Así, Argüello *et al.* (2004) probaron calostro refrigerado y calostro congelado sin encontrar diferencias en la concentración de IgG a lo largo del primer mes de vida del cabrito. Asimismo, estos autores también probaron un calostro comercial el cual no proporcionó a los cabritos la inmunidad necesaria en el primer mes de vida. En el mismo sentido, Castro *et al.* (2005) obtuvieron mejores resultados utilizando calostro liofilizado que calostro congelado.

#### **4.8.1.7.2. Sexo**

Castro *et al.* (2009) no encontraron diferencias en cuanto al sexo en las concentraciones de IgG de cabritos. Argüello *et al.*, (2004) tampoco encontraron diferencias en la concentración de IgG entre sexos en animales de 84 horas de vida.

**4.8.1.7.3. Alimentación**

Altiner *et al.* (2005) estudiando las diferencias entre la lactancia artificial y la natural, concluyeron que los niveles de IgG eran mayores en aquellos corderos que permanecían con las madres. Si bien, los corderos bajo lactancia artificial fueron alimentados con leche de vaca en sus primeras semanas.

Kehoe *et al.* (2008) trabajando con vacas y suplementando el lactorreemplazante con nucleótidos, no encontraron diferencias en las concentraciones de IgG, al igual que Morales-delaNuez *et al.* (2009) que alimentando cabritos con un lactorreemplazante comercial, probaron el uso de un inmunoestimulante, no encontrando diferencias entre los grupos tratados o no en cuanto a los títulos de IgG, IgA e IgM se refiere.

Por otro lado, Ballou y Depeters (2008) en terneros a los que adicionaron al lactorreemplazante aceite de pescado, observaron que al inyectar ovoalbúmina la respuesta inmune humoral primaria medida en IgG producidas frente a la ovoalbúmina, no se vio alterada, mientras que la secundaria sí se vio mejorada, concluyendo además que el tratamiento es dependiente de la dosis.

**4.8.2. Actividad del sistema de complemento**

El sistema de complemento es un componente central del sistema inmune innato, además de mediar en los mecanismos de respuesta mediante anticuerpos. Tiene tres actividades fisiológicas principales: defensa frente a infecciones bacterianas, puente entre el sistema inmune innato y adquirido y de limpieza de los desechos de los complejos inmunes y daños de la inflamación (Walport, 2001).

Aunque en un principio el complemento fue identificado como una proteína lábil que se encontraba en el suero y que complementaba a los anticuerpos en la lucha contra las bacterias, ahora se sabe que el complemento es un sistema del que forman parte más de 35-40 proteínas en el plasma y en las superficies celulares.

Clásicamente se ha pensado que el sistema de complemento se puede activar por tres rutas: la ruta clásica, la ruta de las lectinas y la ruta alternativa (Walport, 2001), pero hoy en día esta idea está cambiando para pensar que el sistema de complemento es una red central estrechamente conectada con los demás sistemas (Ricklin *et al.* 2010) como se puede observar en la siguiente figura.

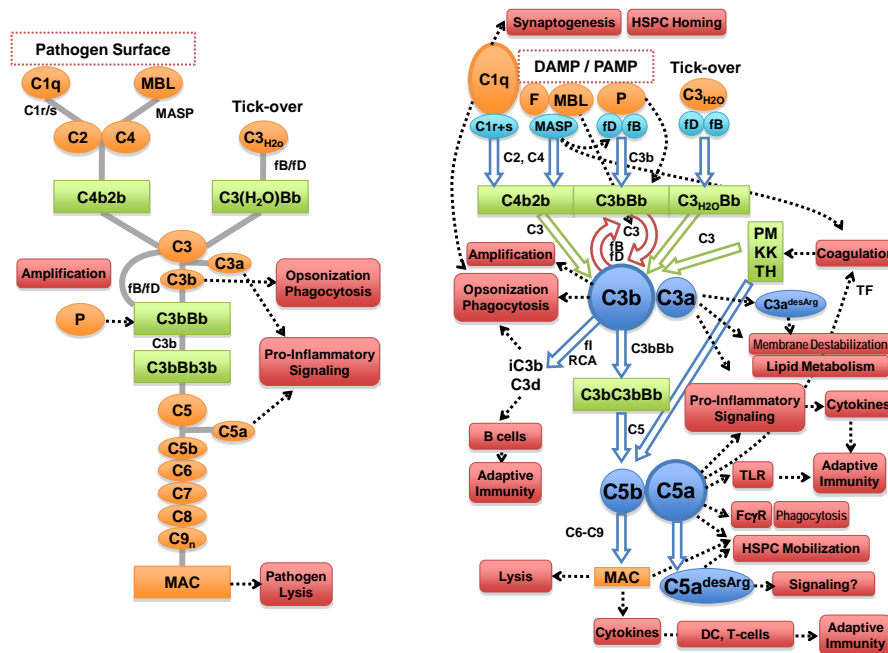


Fig.4. Nuevas perspectivas en el sistema de complemento (Ricklin *et al.*, 2010).

Si bien, todas las rutas convergen en la rotura de la proteína C3, la más abundante del sistema de complemento (Mastellos *et al.*, 2004), produciendo complejos de proteasas que son capaces de romper esta proteína C3 en C3a y C3b. C3b tiene la capacidad de establecer enlaces covalentes en la superficie de la partícula diana, siendo capaz de activar el sistema actuando como una opsonina, además de unirse a las C3 convertasas formando las C5 convertasas y así iniciar la cadena del complejo de ataque a la membrana, normalmente conocido como MAC por su acrónimo en inglés, formado

por las proteínas C5b, C6, C7, C8 y C9, que producirá la lisis de la célula diana (Mayilyan *et al.*, 2008).

Las diferentes rutas tienen formas diferentes de activación. La ruta clásica se conoce por ser dependiente de anticuerpos, debido a que se inicia con la presencia de inmunoglobulinas, tanto IgG como IgM, aunque la proteína C1q se ha demostrado que es capaz de reconocer distintas estructuras directamente como bacterias Gram-negativas, inmunoglobulinas unidas a bacterias o componentes del hospedador alterados como amiloides o células en apoptosis (Seelen, 2005). En la ruta de las lectinas por su parte, se reconocen principalmente carbohidratos gracias a las ficolinas y a las MBL (lectinas que se unen a manosas). Finalmente, la ruta alternativa presenta una forma diferente, ya que está activada constantemente a través de la proteína C3 hidrolizada, aunque también se puede activar vía IgG, o por bacterias, virus o levaduras (Sim y Malhotra, 1994; Law y Reid, 1995).

Debido a que la activación de cada ruta del sistema de complemento envuelve una gran cascada de amplificación, este sistema debe estar bien regulado en varios pasos de cada ruta para evitar el daño de las células de hospedador (Zipfel y Skerka, 2009).

Así, en las rutas clásica y de las lectinas encontramos el C1-inh (inhibidor de la esterasa C1), las sMAP y MAP-1 que compiten por unirse a las MBL y ficolinas y el inhibidor del receptor C2 (Inal *et al.*, 2005). Mientras que en la ruta alternativa la proteína reguladora principal es el factor H (fH) que actúa disminuyendo la aceleración de la cascada o bien sirviendo como cofactor del factor I para degradar C3b, además de muchas otras moléculas (Ricklin *et al.*, 2010).

El sistema de complemento en los mamíferos está bien caracterizado, sobretodo en humanos y en ratones, aunque también se han estudiado otras especies en diferente

nivel de detalle, como el chimpancé, perro, caballo, oveja, cobaya, cerdo, vaca, pollo o peces, quedando patente que sus sistemas de complemento son muy similares (Mayilyan *et al.*, 2008). Principalmente los estudios se han referido a las proteínas encontradas en el suero, pero también se han encontrado en pequeñas concentraciones en otras partes del cuerpo (Matheswaran *et al.*, 2003) como en la linfa, el calostro o la leche (Rainard, 2003).

### **4.8.2.1. Actividad del complemento en animales de producción.**

En cuanto a los animales de producción, el sistema de complemento ha sido ampliamente estudiado en vacas desde bien temprano, como la revisión de Linscott y Triglia en 1981. Muchos autores han tratado de caracterizar el sistema de complemento de la vaca purificando sus proteínas como Aston *et al.* (1990) que aislaron la proteína C5, Menger *et al.* (1999) que aislaron la C8 o Menger (2003) que aisló el factor I, mientras que Rainard *et al.* (1998) cuantificaron la proteína C5a/C5adesArg en plasma, suero y leche. Si bien, son muchos los trabajos encontrados en el campo de la parasitología como los de Tabel, (1982), Montgomery *et al.* (1986), Boulard, (1989) o más recientemente Li *et al.* (2010). Y por otro lado, Korhonen *et al.* (2000), Rainard (2003) y Rainard y Riollet, (2006) se centraron en investigar la glándula mamaria y la leche y su relación con el sistema de complemento, debido sobretodo a la importancia en enfermedades tan comunes como la mastitis.

En otros rumiantes como en ovino, Oswald *et al.* (1990) describieron la actividad del complemento por las rutas clásica y alternativa en relación a la edad y el sexo. O bien en dromedarios, en los que se ha medido la actividad de la ruta clásica (Ouma *et al.*, 1997; Chopra y Kashyap, 2001) y se ha aislado la proteína C3 y cuantificado en relación a infecciones parasitarias (Ouma *et al.*, 1998).

Ya en cabras, también ha habido interés desde muy temprano, como se observa en el trabajo de Noguchi y Bronfenbrenner desarrollado en 1911 en el que ya se comenzó a utilizar especie como modelo de estudio, aunque son trabajos muy diversos y con poca relación. Así, Oyekan y Barta, (1980) desarrollaron las condiciones ideales para un ensayo hemolítico en la ruta clásica, Venugopal *et al.* (1992) lo desarrollaron en la ruta alternativa. Kiljstra *et al.* (1984) por su parte encontraron en lágrimas actividad de inhibición del complemento. McKay (1981) y Lin *et al.* (1983) purificaron la proteína C1q, Borsos y Rapp (1965) estimaron el peso molecular de varias proteínas y Cameron *et al.* (1990) secuenciaron algunos genes, mientras que Olaho-Mukani *et al.* (1996) estudiaron los efectos en parasitosis.

Pero más recientemente, la Unidad de Producción Animal de la ULPGC viene trabajando en el sistema del complemento como parte del sistema inmune del cabrito, observando esta actividad en relación a la dieta y la edad (Castro *et al.*, 2008), efectos del encalostrado (Rodríguez *et al.*, 2009) o efectos de la administración de un inmunoestimulante (Morales-delaNuez, 2009).

### **4.8.2.2. Factores de variación de la actividad del sistema de complemento**

#### **4.8.2.2.1. Edad**

A partir de la información disponible, se puede decir que existe actividad del complemento momentos después del nacimiento (Mueller *et al.*, 1983), si bien aumenta con la edad del animal mientras que éste es amamantado, disminuyendo después hasta alcanzar con la edad de un año los valores de adulto (Oswald *et al.*, 1990), siendo la vía clásica la primordial, mientras que la alternativa tarda más en desarrollarse, manteniéndose baja durante las primeras seis semanas, pero aumentando con la edad. Sin embargo, Castro *et al.* (2008) encontraron en cabritos de hasta dos meses de edad de

la raza Majorera que la actividad del sistema de complemento se debía a la ruta alternativa en exclusiva.

### **4.8.2.2. Alimentación**

Castro *et al.* (2008) observaron en su estudio que los cabritos alimentados con lactorreemplazante no desarrollaban actividad del sistema de complemento en los primeros dos meses de vida, mientras que con la leche de cabra alcanzaban la mitad de la actividad ya en el día 50. Por otro lado, observaron que la adición de CLA al lactorreemplazante, hacía que se registrara actividad de complemento desde el día 30. Morales-delaNuez *et al.* (2009) corroboraron estos resultados, al no observar actividad del complemento en animales alimentados con lactorreemplazante y habiendo recibido o no la dosis correspondiente de un inmunoestimulante. Por otro lado, Rodríguez *et al.* (2009) encontraron que no había actividad del complemento en los primeros días de vida y que no tenía relación con la concentración de inmunoglobulinas presentes en el calostro.

### **4.8.3. Actividad de la chitotriosidasa**

La chitotriosidasa (ChT) es una enzima secretada por el último estadio de diferenciación de los macrófagos. Su actividad aparece muy elevada en el suero plasmático de pacientes que padecen enfermedades como la malaria, la enfermedad de Gaucher tipo 1 o en alteraciones hematológicas (Hollak *et al.*, 1994; Barone *et al.*, 1999, *et al.* 2003). Sin embargo la función fisiológica del enzima aun no está muy clara, aunque la expresión específica en los macrófagos sugiere una función en el sistema inmune (Boot *et al.*, 2005). Así, en las plantas se encuentran determinadas quitinasas que se inducen tras el ataque por patógenos y toman parte en la defensa contra hongos que contienen quitina (Schlumbaum *et al.* 1986; Sahai and Manocha 1993) y una función similar se ha encontrado en el sistema inmune de humanos como se ha observado con

modelos de ratones (Stevens *et al.*, 2000; Eijk *et al.*, 2005), y en humanos (Di Rosa *et al.*, 2005; Malaguarnera *et al.*, 2005) durante procesos inflamatorios (Di Rosa *et al.*, 2006; Malaguarnera *et al.*, 2006).

### **4.8.3.1. Actividad de la chitotriosidasa en animales de producción**

Aunque en humanos la ChT está bastante estudiada debido a su relación con determinadas enfermedades, en los animales poco hay escrito sobre el tema, siendo los principales representados los ratones, ratas y los primates por la relación con los humanos que estas especies poseen (Gianfrancesco y Musumeci, 2004; Chen y Cai, 2008). Sólo se han encontrado unos pocos trabajos de quitinasas en general, como una quitinasa del intestino o del hígado en especies como ranas (Fujimoto *et al.*, 2002), vacas (Suzuki *et al.*, 2001; Fujimoto *et al.*, 2004) u ovejas (Knight *et al.*, 2007).

Si bien, en los últimos años se ha abierto una línea de investigación en cabras, que comenzó al relacionar el trabajo que Musumeci *et al.* (2005) realizaron con mujeres africanas y caucásicas, comparando sus respectivos niveles de ChT en calostro y observando que la actividad era mayor en las mujeres africanas relacionándolo con una secreción local por la actividad de los macrófagos.

#### **4.8.3.1.1. Factores de variación que afectan a la actividad de la chitotriosidasa**

##### **4.8.3.1.1.1. Edad y estado fisiológico**

Argüello *et al.*, (2008) trabajando con cabras de la raza Majorera y midiendo la actividad de la ChT en suero, encontraron actividades mayores en las cabras que en los humanos, debido posiblemente a un mayor contacto con parásitos y hongos, y observando que en el momento del parto, la actividad de la ChT en el calostro era mayor que a los cuatro días postparto. Por otro lado, estos autores también midieron la actividad en los cabritos, observando que la actividad aumentaba con la edad, desde el



nacimiento hasta los 56 días de vida. Algo también observado por Rodríguez *et al.* (2009) en los primeros cinco días de vida.

Castro *et al.* (2011) por su parte, estudiaron la relación de la actividad de la ChT con la inducción al parto, observando que no había diferencias entre el grupo inducido y el control.

Asimismo, Hernández-Castellano *et al.*, (2011) midieron la actividad de la ChT en cabras relacionándolo con la frecuencia de ordeño durante cinco semanas (una vez al día la primera y la quinta semana, dos veces al día durante la segunda y la cuarta semana y tres veces al día durante la tercera semana) y observaron una disminución de la actividad desde la primera hasta la quinta semana.

### **4.8.3.1.1.2. Alimentación**

Rodríguez *et al.* (2009) no encontraron ninguna diferencia en la actividad de la chitotriosidasa en relación a la cantidad de inmunoglobulinas del encalostrado.

### **5. Planteamiento y Metodología**

Varios son los temas que se han tratado en esta Tesis Doctoral, cuyo eje central es el uso de la lactancia artificial en cabritos. Así, los diferentes temas tratados se incluyen en forma de capítulos presentados en forma de manuscrito científico tal y como se han enviado a las revistas científicas.

#### **5.1. Capítulo 1**

##### **5.1.1. Planteamiento**

El lactosuero, subproducto generado en la producción de queso, se está convirtiendo en un grave problema medioambiental por su gran capacidad contaminante (Kaur *et al.*, 2009), así siendo debido a ser un producto muy rico en nutrientes (Yang *et al.*, 1994). Por esta razón, muchos son los esfuerzos que se han puesto en su aprovechamiento.

Por un lado, la industria alimentaria lo está utilizando para producir sirope que puede ser utilizado en multitud de productos como edulcorante (Yang y Silva, 1995). Por otro lado, históricamente el lactosuero se ha utilizado como alimento del ganado y actualmente es ingrediente fundamental de la mayoría de los lactorreemplazantes comerciales para rumiantes.

Si bien, dependiendo de los territorios la procedencia del lactosuero no va a ser la misma. Así, por ejemplo, en las Islas Canarias predominan las queserías artesanales frente a las industriales (Fresno *et al.*, 1992). Teniendo en cuenta que los procesos son diferentes en cada quesería, presumiblemente los lactosueros no tendrán la misma composición. Así, se hace indispensable conocer la composición del lactosuero dependiendo de la procedencia para poder estandarizar los posibles procesos de la transformación del producto.

### 5.1.2. Metodología

Los resultados de este experimento han sido publicados en el artículo “Farm and Factory production of goat cheese whey results in distinct chemical composition” (Composición química diferente del lactosuero de quesería como resultado de la producción artesana o industrial del queso) en *Journal of Dairy Science* (2009; 92, 4792-4796).

En este trabajo se estudió la composición química de diferentes muestras de lactosuero recogidas tanto en queserías artesanales como en queserías industriales de las Islas Canarias. Así, se estudiaron 60 muestras de lactosuero procedente de queserías artesanales y otras 20 de queserías industriales.

El análisis más grosero de la composición química de los diferentes sueros se midió utilizando un aparato MIRIS (MIRIS Inc., Uppsala, Suecia), el cual utiliza una técnica basada en infra-rojos y aprobada por la International Dairy Federation (Bruselas, Bélgica) y la AOAC International (Gaithersburg, MD).

Por otro lado se analizaron las proteínas del lactosuero sin tratar mediante una electroforesis SDS-PAGE (Laemmli, 1970) utilizando como estándar: lactoferrina, albúmina sérica caprina,  $\alpha$ -caseína,  $\beta$ -caseína,  $\kappa$ -caseína,  $\beta$ -lactoglobulina, y  $\alpha$ -lactalbúmina (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO). Tras la electroforesis, el teñido y el desteñido según Basch *et al.* (1985), las bandas proteicas se midieron mediante un aparato Quantity One (Bio-Rad Laboratories).

El análisis de los ácidos grasos se realizó de la siguiente manera: la grasa láctea fue extraída según el método de Röse-Gottlieb y los ácidos grasos se metilaron según lo descrito por Chin *et al.* (1992). La separación y cuantificación de los ácidos grasos metilados se llevó a cabo en un cromatógrafo de gases (Varian 3600; Varian, Harbor City, CA). Cada ácido graso se identificó en referencia al tiempo de retención de los

estándares (Sigma-Aldrich, St Louis, MO) y modificado según los siguientes estándares internos: C13:0 (C10:0 a C17:0) y C19:0 (C18:0 a C18:3).

Los resultados se analizaron mediante el paquete estadístico SAS (versión 9.0; SAS Institute Inc., Cary, NC) mediante ANOVAs de una vía considerando un valor de  $P < 0,05$  como estadísticamente significativo.

### **5.2. Capítulo 2**

#### **5.2.1. Planteamiento**

Una parte muy importante del Sistema Inmune es el sistema de complemento, el cual funciona como una red que engloba todos los demás sistemas inmunitarios (Ricklin *et al.*, 2010). El sistema de complemento en mamíferos está bien caracterizado en diferentes especies, quedando patente que sus sistemas del complemento son bastante similares (Mayilyan *et al.*, 2008). Si bien, en la especie caprina no son muchos los trabajos realizados, siendo la mayoría bastante dispares.

Debido al conocimiento limitado del sistema de complemento de la cabra, se hacen necesarios nuevos estudios relacionando este sistema y esta especie. Por lo que se pretende con este trabajo es comprender un poco más en detalle el sistema del complemento de la cabra mediante el desarrollo de una técnica hemolítica para medir la actividad y aislando algunas proteínas mayoritarias del sistema, como son el factor H, la C3 y la C1q.

#### **5.2.2. Metodología**

Los resultados de este trabajo se presentan en el formato requerido por la revista a la que ha sido enviado: *Veterinary Immunology and Immunopathology*, bajo el título “The Complement System of the Goat: haemolytic assays and isolation of major proteins” (El sistema de complemento de la cabra: ensayos hemolíticos y aislamiento de proteínas mayoritarias).

## **Planteamiento y Metodología**

El primer paso fue elegir las células que se utilizarían en los ensayos. Así, aunque con otras especies animales se utilizan eritrocitos de oveja, en cabra se observó que utilizando estos eritrocitos de oveja, no se detectaba actividad. Por lo que se decidió desarrollar un ensayo en el que se probaron eritrocitos de oveja y de humano, con diferentes sistemas de anticuerpos para hacer más sensible la hemólisis. Así se probaron eritrocitos de oveja (sE), eritrocitos de oveja sensibilizados con anticuerpos de conejo (sEA), eritrocitos de humano (hE), eritrocitos de humano sensibilizados con antisuero de conejo anti-humano (hEA) y eritrocitos de oveja sensibilizados con anticuerpos de humano (sE+HA).

Por otro lado, el buffer utilizado normalmente en estas pruebas hemolíticas es el llamado DGVB<sup>++</sup> (Dextrosa Gelatina Veronal Buffer, con Ca<sup>++</sup> y Mg<sup>++</sup>: 2.5mM sodio barbital, 71mM NaCl, 0,15mM CaCl<sub>2</sub>, 0,5mM MgCl<sub>2</sub>, 2.5% (p/v) glucose, 0,1% (p/v) gelatina, pH 7,4), el cual utiliza la droga veronal (sodio barbital) como principal ingrediente. Es una droga que su compra puede ser difícil, por lo que se decidió desarrollar un nuevo buffer a base de HEPES, un reactivo de uso normal en laboratorios, el cual fue nombrado como DGHB<sup>++</sup> (HEPES Gelatina Veronal Buffer, con Ca<sup>++</sup> y Mg<sup>++</sup>: 5mM HEPES, 71mM NaCl, 0,15mM CaCl<sub>2</sub>, 0,5mM MgCl<sub>2</sub>, 2,5% (p/v) glucosa, 0,1% (p/v) gelatina, pH 7,4). Para la ruta alternativa, el buffer normalmente utilizado es el DGVB-Mg-EGTA buffer (2,1 mM sodio barbital, 59mM NaCl, 7,0mM MgCl<sub>2</sub>, 2,08% (p/v) glucosa, 0,08% (p/v) gelatina, 10mM EGTA, pH 7.4), pero se cambió por DGHB-Mg-EGTA (4,2 mM HEPES, 59 mM NaCl, 7,0mM MgCl<sub>2</sub>, 2,08% (p/v) glucosa, 0,08% (p/v) gelatina, 10mM EGTA, pH 7,4).

Encontrando que las células que mejor funcionaban con cabra fueron los eritrocitos de humano sensibilizados con anticuerpos de conejo, y viendo que el nuevo buffer DGHB<sup>++</sup> funcionaba de una forma muy similar a como funcionaba el DGVB<sup>++</sup>.

## **Planteamiento y Metodología**

El siguiente paso fue realizar el ensayo de hemólisis. Para ello en una placa multipocillo se hicieron diluciones seriadas del suero de cabra comenzando con una concentración del 50%, y continuando hasta 10 veces. Los porcentajes de lisis se midieron en base a la lisis total y a la lisis espontánea. Los resultados se mostraron como CH50 y AP50.

Para el aislamiento del factor H se utilizó un suero comercial, el cual se mezcló con TNP-BSA-Sefarosa, preparada como indicaron Arnold *et al.* (2005). Después de esto, la proteína se eluyó probando tres buffers diferentes: Urea buffer (10mM MES, 6M urea pH 6.0), NaCl 2M y 6M guanidina-HCl buffer (6M guanidina-HCl, 10 mM Tris, 100mM Na fosfato pH 8.0-8.2), viéndose que los mejores habían sido el 2M NaCl y el buffer de guanidina, después de medir la cantidad de proteína mediante electroforesis SDS-PAGE. Para purificar la proteína, las fracciones se mezclaron y se pasó por una columna Protein G “Hi Trap” (GE Healthcare) para quitar la IgG, siguiendo otra cromatografía utilizando una columna Superose 6 10/300 GL (GE Healthcare). La purificación se monitorizó con una electroforesis SDS-PAGE usando factor H humana como estándar.

Para la determinación de la proteína C1q, el suero de cabra se mezcló con non-immune human IgG-Sepharose preparada como indicaron Sim *et al.* (1993). La proteína se eluyó con CAPS buffer (50 mM CAPS, 1M NaCl, 5mM EDTA, pH 11.0 to 11.2 y se pasó a través de una columna Hi-Trap para quitar la IgG. Para separar contaminantes, se realizó una cromatografía con una columna MonoQ 5/5 (GE Healthcare). Siguiéndole otra cromatografía con una columna MonoS 5/5 (GE Healthcare) y monitorizando la dilución con una electroforesis SDS-PAGE con C1q humana como estándar.

Para la determinación de la proteína C3, se siguió el protocolo que Dodds (1993) empleó en humanos con algunas modificaciones. Tres pasos cromatográficos fueron necesarios: el primero de intercambio aniónico con una columna Hi Load 16/10 Q

Sepharose FF (GE Healthcare); otra cromatografía de intercambio aniónico con una columna MonoQ HR 5/5 con los mismos buffers; y finalmente una de exclusión con una columna Superose 6 10/300 GL con PBS-5 mM EDTA. Analizando cada paso con una electroforesis SDS-PAGE.

### **5.3. Capítulo 3**

#### **5.3.1. Planteamiento**

En los últimos años se están generando una gran cantidad de productos enriquecidos con ácidos grasos poliinsaturados omega-3 debido a las recomendaciones de los organismos oficiales de incrementar el consumo de estos ácidos grasos en nuestra dieta (EFSA, 2010; American Dietetic Association, 2005). Por lo que basados en el hecho de que la composición en ácidos grasos de la dieta va a ser un factor determinante en la composición de ácidos grasos del músculo y de los tejidos adiposos de los animales prerrumiantes (Yeom *et al.*, 2002), son muchos los productos cárnicos que se han generado mediante manipulación dietética.

Por otro lado, además de la mejora del perfil de ácidos grasos, son muchos los trabajos que hablan de una mejora a nivel de crecimiento y de la calidad de la canal y de la carne, además de mejoras en el estado inmune de los animales por el consumo de estos ácidos omega-3.

Aunque anteriormente el uso de aceites de pescado como fuente de ácidos grasos omega-3 era lo más extensamente utilizado, debido a diferentes problemas achacados al uso de estos aceites, actualmente se está tendiendo a utilizar aceites provenientes de algas marinas (Cannon, 2009). Por otro lado, aun no se han establecido las dosis que pueden ser más beneficiosas.

Así, el fin de este trabajo fue probar diferentes dosis de aceite de algas marinas mezcladas con el lactorreemplazante habitual de los cabritos y observar los efectos que

estas dosis tenían en diferentes parámetros de crecimiento, calidad de la canal y de la carne y estado inmune de los cabritos.

### **5.3.2. Metodología**

Los resultados de este experimento se presentan en el formato exigido por la primera revista en la que se ha intentado su publicación: Journal of Animal Science, bajo el título: “Effects of Algal DHA Supplementation on Growth, Carcass and Meat Qualities, Fatty Acid Composition and Immune Status of Goat Kids” (Efectos de la suplementación de DHA algal sobre el crecimiento, calidad de la canal y de la carne, composición de ácidos grasos y estado inmune de los cabritos).

Este estudio se llevó a cabo en la Granja Experimental de la Facultad de Veterinaria de la ULPGC. Así, 30 cabritos (tanto machos como hembras) fueron asignados aleatoriamente a uno de los tres grupos experimentales: un primer grupo que fue alimentado con lactorreemplazante (MR), un segundo grupo que recibió un lactorreemplazante suplementado con 9 g de un producto rico en DHA (DHA-gold®, Martek Biosciences, USA) (MR-LD-DHA); mientras que al tercer grupo, conocido como MR-HD-DHA, se le adicionaron 18 g de ese mismo producto rico en DHA. La concentración final de todas las dietas fue de un 16% (p/p).

Los cabritos fueron alimentados *ad libitum* dos veces al día siguiendo con su dieta correspondiente hasta que alcanzaron los ocho kilogramos de peso, momento en el cual eran sacrificados acorde con las normas de bienestar animal.

Una vez sacrificados, la canal fue limpiada según las prácticas habituales. El peso vivo al sacrificio (PVS), el peso de la canal caliente (PCC), el peso de la canal fría (PCF) y el peso de las diferentes vísceras fue anotado, mientras que el peso neto al sacrificio (PNS) fue calculado. Por otra parte, el pH fue medido usando un pH-metro Crisson 507 y el color del músculo con un colorímetro Minolta CR200 en el músculo



## **Planteamiento y Metodología**

*Longissimus* a la altura de la 12<sup>a</sup>/13<sup>a</sup> costilla inmediatamente después del sacrificio y después del oreo (24 horas).

Por otro lado, varias medidas de conformación fueron tomadas y se calcularon varios rendimientos siguiendo las directrices de Argüello *et al.* (2007)

Ya después del oreo (tras 24 horas a 4°C), las canales fueron divididas por la mitad y éstas a su vez en cinco cortes principales según describieron Colomer-Rocher *et al.* (1987), siendo cada pieza pesada, envasada al vacío y congelada a -18°C hasta su posterior análisis. Así, las espaldas izquierdas fueron descongeladas durante 24 horas a 4°C y después de pesadas, fueron diseccionadas como describió Argüello *et al.* (2001).

La composición química de la carne se determinó usando el músculo *Longissimus*, midiéndose la humedad, grasa intramuscular, proteína y cenizas (AOAC, 1984) y el colágeno total y soluble según los procedimientos de Bonnet y Kopp (1984) y Hill (1966). Por otro lado, el músculo *semimembranosus* se utilizó para medir las pérdidas por descongelación y la capacidad de retención de agua (CRA) siguiendo las pautas de Grau y Hamm (1953) modificado por Sierra (1973). El músculo *semimembranosus* se cocinó para calcular las pérdidas por cocinado así como la terneza mediante una célula de Warner-Bratzler con un aparato INSTRON según Argüello *et al.* (2005).

Los ácidos grasos de la grasa intramuscular, perirrenal, pélvica, subcutánea e intermuscular fueron medidas siguiendo el protocolo de Granados (2000) y Folch *et al.* (1957).

Además, se midieron varios parámetros inmunológicos para determinar el efecto de la dieta en el sistema inmune del animal. Así se recogieron muestras de sangre de la vena yugular diariamente desde el nacimiento hasta el día diez de vida y cada cinco días

hasta que el cabrito alcanzó los ocho kilogramos de peso, tras lo cual el suero y el plasma eran separados, alicuotados y congelados a -20°C hasta su posterior análisis.

Los niveles de inmunoglobulinas en plasma fueron medidos usando los reactivos para IgG e IgM del kit de cabra (Bethil Laboratories, Montgomery, TX, EE.UU) y los niveles de chitotriosidasa (ChT) en plasma fueron medidos siguiendo lo descrito por Argüello *et al.* (2008).

La cantidad de complemento en suero fue medido utilizando los buffers desarrollados en el capítulo 2: DGHB<sup>++</sup> buffer para medir la actividad de complemento total y DGHB-Mg-EGTA buffer para la ruta alternativa. Se utilizaron eritrocitos de conejo (EC) diluidos al 5% en el buffer correspondiente. Así, la hemólisis alcanzada por la actividad de complemento fue medida siguiendo esta fórmula:  $(A405 \text{ muestra} - A405 \text{ lisis espontánea}) / (A405 \text{ 100\% hemólisis} - A405 \text{ lisis espontánea}) * 100$ .

Los datos se analizaron usando el paquete estadístico SAS (versión 9.00, SAS Institute Inc., Cary, NC). En el caso de los datos relativos a crecimiento, calidad de la canal y de la carne y ácidos grasos, se analizaron mediante una ANOVA de una vía. En el caso de las muestras relativas a los parámetros inmunológicos el test elegido fue una ANOVA de medidas repetidas, identificando las diferencias significativas mediante el test de Turkey (Ott y Longnecker, 2001).

### **5.4. Capítulo 4**

#### **5.4.1. Planteamiento**

Actualmente, el uso de la lactancia artificial en caprino se está convirtiendo en una práctica habitual, por lo tanto hay que buscar alternativas en el uso de los lactorreemplazantes con el fin de conseguir buenos resultados a un bajo precio.

Aunque el uso de la leche de vaca es una práctica tradicionalmente utilizada por los ganaderos, pocos estudios son los que han tratado este producto en cuanto a las

características del crecimiento y calidad de la canal y de la carne, y menos aun en cuanto al estado inmune.

Por otro lado, como ya se ha tratado en el capítulo 4, el uso de los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 en la alimentación de los animales prerrumiantes es una práctica utilizada actualmente para el aumento de estos ácidos grasos en la carne de estos animales, así como para mejorar tanto el crecimiento, conformación y estado inmune de los animales.

Así, en este capítulo lo que se pretende es comparar la leche de vaca frente a la leche de cabra, además de observar si la adición de DHA a la leche de vaca mejora los parámetros de crecimiento, calidad de la canal y de la carne, perfil de ácidos grasos, y estado inmune de los cabritos.

### **5.4.2. Metodología**

Los resultados relativos a este capítulo se presentan con el formato exigido por la primera revista científica en la que se busca su publicación, Journal of Animal Science, bajo el título: “Using DHA in goat kid rearing; effects on immune system and meat quality” (Uso de DHA en la cría de los cabritos: efectos sobre el sistema inmune y la calidad de la carne).

Este estudio se llevó a cabo en la Granja experimental de la Facultad de Veterinaria de la ULPGC. 30 cabritos fueron asignados a uno de los tres grupos experimentales: leche de cabra (GM), en la que los cabritos se alimentaron con leche de cabra proveniente de la propia explotación; leche de vaca (CM), la cual se preparaba reconstituyendo leche de vaca en polvo al 16% (p/p); y finalmente, leche de vaca más DHA (CM-DHA), en la que se añadían 9 g de un producto rico en DHA (DHA-gold©, Martek Biosciences, USA) con a la leche de vaca en polvo, con una concentración final del 16% (p/p).

Los animales fueron alimentados *ad libitum* dos veces al día hasta que alcanzaron los 8 kg de peso, momento en el cual fueron sacrificados acorde a las prácticas de bienestar animal.

La metodología siguiente en cuanto a crecimiento, calidad de la canal, calidad de la carne, perfil de ácidos grasos y parámetros del sistema inmune, se desarrolló de la misma manera que el trabajo del capítulo 3.

### **5.5. Capítulo 5**

#### **5.5.1. Planteamiento**

Debido al interés en mejora de la calidad nutricional de las carnes, se está produciendo un aumento en el uso de ácidos grasos poliinsaturados omega-3 en la alimentación de los animales prerrumiantes (Wood *et al.*, 2003). Sin embargo, son pocos los trabajos que se han preocupado de estudiar su calidad sensorial (Díaz *et al.*, 2011), aunque se sabe que los ácidos grasos del músculo afectan en varios aspectos como la dureza, la estabilidad del color de las grasas y el flavor de la carne (Wood *et al.*, 2003), lo que cambiará enormemente las características de la carne suplementada, sobretodo con ácidos grasos poliinsaturados, los cuales se depositan preferentemente en los fosfolípidos y son los responsables del flavor de la carne (Mottram y Edwards, 1983).

Por lo tanto lo que se pretende en este trabajo es analizar sensorialmente las carnes de diferentes dietas suplementadas y no suplementadas tanto mediante un panel semi-entrenado como con consumidores habituales de la carne de cabrito.

#### **5.5.2. Metodología**

Los resultados de este estudio se presentan en las normas de la revista a la que han sido enviados, Meat Science, bajo el título “The effect of omega-3 polyunsaturated fatty acid addition to milk replacer on the sensory quality of goat kid meat” (Efecto de la adición

de ácidos grasos omega-3 en el lactorreemplazante sobre la calidad sensorial de la carne de cabrito).

Este estudio se llevó a cabo en la granja experimental de la Facultad de Veterinaria de la ULPGC. Los cabritos fueron alimentados desde su nacimiento y después del encalostrado acorde a lo dictado por Castro *et al.* (2005), con seis dietas diferentes: leche de cabra (GM) proveniente de la granja, leche de vaca (GM) preparada a partir de leche de vaca en polvo con un 16% (p/p), lactorreemplazante comercial (MR) (Bacilactol Cabritos, Saprogal, La Coruna, Spain), lactorreemplazante más una dosis baja de 9g/L de una fuente de DHA (MR-LD-DHA) (DHA-gold©, Martek Biosciences, Columbia, MD, USA), leche de vaca con la dosis baja de DHA de 9 g/l (CM-LD-DHA) y lactorreemplazante más una dosis alta de 18 g/l de DHA (MR-HD-DHA).

Los animales se alimentaron ad libitum dos veces al día hasta alcanzar los 8 kg de peso momento en el cual fueron sacrificados atendiendo a las prácticas de bienestar animal.

Después del oreo, las canales fueron divididas acorde a lo dictado por Colomer-Rocher *et al.* (1987), y los músculos *Quadriceps* y *Longissimus dorsi* se diseccionaron y congelaron a -18°C hasta su posterior análisis.

Las muestras utilizadas en la evaluación sensorial se descongelaron a 4°C durante 24 horas y se prepararon piezas de 2 x 2 x 1 cm, separando todo el tejido conectivo y grasa de cobertura de las muestras. Las muestras se enrollaron en papel de aluminio y se cocinaron en un grill de doble tapa a 200 °C durante 1 min e inmediatamente se les presentaban a los panelistas. El músculo *Quadriceps* se utilizó para la prueba sensorial del panel semi-entrenado, mientras que el *Longissimus dorsi* se utilizó para el test triangular de consumidores.

## **Planteamiento y Metodología**

Para el análisis sensorial, se utilizó un panel semientrenado de nueve personas que normalmente colaboran con la unidad en análisis de este tipo. Después de algunas sesiones de entrenamiento en las cuales se utilizaron descriptores cuantitativos, el panel evaluó diez atributos utilizando una escala de 10 cm. olor, olores extraños, ternura, fibrosidad, flavor, sabores rancios, sabores a hígado, sabores grasos y apreciación general, como ya hizo anteriormente Resconi *et al.* (2010), evaluando un total de 36 muestras pertenecientes a 60 animales en 12 sesiones.

Cada sesión se llevó a cabo en una habitación especial con las equipaciones necesarias recogidas en la norma ISO 8589:2010. Los panelistas recibieron agua y colines para que los tomaran entre muestras.

Por otro lado, se llevó a cabo un test triangular con consumidores habituales (sin entrenamiento) de cabrito. Así, 95 personas realizaron el test probando 300 muestras de *Longissimus* de 36 animales, preparadas como ya se ha comentado. A cada consumidor se le entregaron tres muestras, de las cuales dos eran iguales y una diferente, atendiendo a las guías de la Norma UNE-EN ISO 4120:2004. Por lo menos seis muestras de cada tratamiento fueron testadas.

Los resultados del análisis realizado por el panel semi-entrenado se analizaron mediante un generalized procrustes analysis (GPA), método ampliamente utilizado en análisis sensorial (Gower, 1975). Por otro lado, la prueba triangular se analizó consultando las tablas de la Norma UNE-EN ISO 4120.

**6. Bibliografía**

- Abouheif, M.A., Al-Saiady, M.Y., Kraidees, M.S., Basmaeil, S.M., Al-Suwaid, A. 1995. Influence of dietary energy and *postmortem* electrical stimulation on meat quality and collagen characteristics of lamb carcasses. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 8: 577-582.
- Abrams, E., Guthrie, P., Harris, B. 1985. Effect of Dry Matter Intake from Whole Goat Milk and Calf Milk Replacer on Performance of Nubian Goat Kids. *Journal of Dairy Science*, 68: 1748-1751.
- Abril, M., Campo, M.M., Onenc, A., Sanudo, C., Albertí, P., Negueruela, A.L. 2001 Beef color evolution as a function of ultimate pH. *Meat Science*, 58: 69–78.
- Agren JJ, Hanninen O, Julkunen A, Fogelholm L, Vidgren H, Schwab U, Pynnonen O, Uusitupa M. 1996. Fish diet, fish oil and docosahexaenoic acid rich oil lower fasting and postprandial plasma lipid levels. *European Journal of Clinical Nutrition*, 50: 765-771.
- Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, D., Roberts, K., Watson, J.D., 1986. *Biología molecular de la célula*. Ed. Omega, Barcelona.
- Alcalde, M.J. 1995. *Calidad de carne en canales ovinas ligeras españolas y de importación*. Tesis Doctoral. Universidad de Zaragoza.
- Allegretti, L. 1995. *Factores nutritivos y fisiológicos que determinan la ingesta voluntaria en el cabrito prerrumiante de raza Granadina (Nutritional and physiological factors determining the voluntary feed intake in the pre-ruminant goat kid of the Granadina breed)*. Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba, España. (Citado por Sanz Sampelayo *et al.*, 2003)
- Allegretti, L., Sanz, M.R., Gil, F., Boza, J. 1998. Efecto del tamaño abomasal sobre la ingesta en el cabrito prerrumiante. *Análisis de la concentración en materia seca del*

lactorreemplazante y edad animal como factores determinantes del mismo (Feed intake and abomasal size in the pre-ruminant goat kid of the Granadina breed. Effect of the milk replacer dry matter concentration and animal age). *Investigación Agrícola: Producción y Sanidad Animal*, 13: 45–54.

Altiner, A., Özpınar, A., Erhard, M. 2005. Serum immunoglobulin G levels in lambs fed colostrum and dam milk or cow milk and milk replacer after birth. *Medycyna Weterynaryjna*, 61: 1135-1137.

Álvarez, F., Delfa, R., Sañudo, C., González, C. 1995. Calidad instrumental de la carne caprina en función de las diferentes notas atribuidas a la condición corporal. *IV Jornadas sobre Producción Animal*, ITEA, 16: 660-662.

American Dietetic Association. 2005. Position of the American Dietetic Association: fortification and nutritional supplements, *Journal of the American Dietetic Association*, 105: 1300–1311.

Anderson, M., Lamb, R., Mickelsen, C., Wiscombe, R. 1974. Feeding liquid whey to dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 57: 1206–1210.

AOAC, 1984. *Official methods of Analysis*. 3ª Ed. Washington, D.C., A.O.A.C. 7060: 160.

Argüello, A., Marichal, A., Ginés, R., Capote, J., Afonso, J.M., López, J.L. 1999. Effects of rearing system on meat quality in Young kids. *Journal of Animal Science*, 77: 168.

Argüello, A. 2000. Lactancia artificial de cabritos, encalostrado, crecimiento, calidad de la canal y de la carne. Tesis Doctoral. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, España.

Argüello, A., Capote, J., Ginés, R., López, J.L. 2001. Prediction of kid carcass composition by use of joint dissection. *Livestock Production Science*, 67: 293-295.



- Argüello, A., Castro, N., Capote, J., Tyler J.W., Hollonay, N.M. 2004. Effect of colostrum administration practice on serum IgG in goat kids. *Livestock Production Science*, 90: 235-239.
- Argüello, A., Castro, N., Capote, J., Solomon, M. 2005. Effects of diet and live weight at slaughter on kid meat quality. *Meat Science*, 70: 173-179.
- Argüello, A., Castro, N., Capote, J., Solomon, M.B. 2007. The influence of artificial rearing and live weight at slaughter on kid carcass characteristics. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 6: 20-25.
- Argüello, A., Castro, N., Batista, M., Moreno-Indias, I., Morales-delaNuez, A., Sanchez-Macias, D., Quesada, E., Capote, J. 2008. Chitotriosidase activity in goat blood and colostrum. *Journal of Dairy Science*, 91: 2067-2070.
- Arnold, J.N., Wormald, M.R., Suter, D.M., Radcliffe, C.M., Harvey, D.J., Dwek, R.A., Rudd, P.M., Sim, R.B. (2005) "Human serum IgM glycosylation: identification of glycoforms that can bind to mannan-binding lectin". *Journal of Biological Chemistry*, 280, 29080-29087.
- Arterburn, L.M., Oken, H.A., Bailey Hall, E., Hamersley, J., Kuratko, C.N., Hoffman, J.P. 2008. Algal-oil capsules and cooked salmon: nutritionally equivalent sources of docosahexaenoic acid. *Journal of the American Dietetic Association*, 108: 1204-1209.
- Asghar, A., Henrickson, R.L. 1983. *Post-mortem* stimulation of carcasses. Effects of biochemistry, biophysics, microbiology and quality of meat. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 18: 1-104.
- Ashes, J. R., Siebert, B. D., Suresh, K. G., Cuthbertson, A.Z. 1992. Incorporation of n-3 Fatty Acids of Fish Oil into Tissue and Serum Lipids of Ruminants. *Lipids*, 27: 629-633.
- Aston, W.P., Mhatre, A. Macrae, J. 1990. Isolation of the fifth component of the bovine complement system. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 24: 301-312.

- Atti, N., Rouissi, H., Mahouachi, M. 2006. The effect of spineless (*Opuntia ficus-indica f. inermis*) supplementation on growth, carcass, meat quality and fatty acid composition of male goat kids. *Meat Science*, 73: 229-235.
- Bailey, A.J., Enser, M.B., Dransfield, E., Restall, D.J., Avery, N.C. 1982. Martinous Nijhoff Publishers, The Hague. 178-203.
- Ballou, M. A., DePeters, E.J. 2008. Supplementing Milk Replacer with Omega-3 Fatty Acids from Fish Oil on Immunocompetence and Health of Jersey Calves. *Journal of Dairy Science*, 91: 3488–3500.
- Banskalieva, V., Sahlù, T., Goetsch, A.L. 2000. Fatty acid composition of goat muscles and fat depots: a review. *Small Ruminant Research*, 37: 255-268.
- Bañón, S., Vila, R., Price, A., Ferrandini, E., Garrido, M.D. 2006. Effects of goat milk or milk replacer diet on meat quality and fat composition of suckling goat kids. *Meat Science*, 76: 216–221.
- Barone, R., Di Gregorio, F., Romeo, M.A., Schiliro, G., Pavone, L. 1999. Plasma chitotriosidase activity in patients with  $\beta$ -thalassemia. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 15: 1-8.
- Barone, R., Simporè, J., Malaguarnera, L., Pignatelli, S., Musumeci, S. 2003. Plasma chitotriosidase activity in acute *Plasmodium falciparum* malaria. *Clinica Chimica Acta*, 331: 79-85.
- Bart, A. W., Irvine, S. M. 1972. Effect of deliberate dietary mismanagement upon the incidence of dian-hoea in home bred calves. *J. Anita. Prod.* 14: 299.
- Barton, R.A., Phillips, T.O., Clarke, E.A. 1949. Influence of size on fat lamb carcasses. 9 th proceeding N. Z. Soc. Animal Production, 56.
- Basch, J. J., F. W. Douglas, L. G. Procino, V. H. Holsinger, and H. M. Farrell. 1985. Quantification of caseins and whey proteins of processed milks and whey protein

- concentrates application of gel electrophoresis, and comparison with Harland-Ashworth procedure. *J. Dairy Sci.* 68:23–31.
- Bauman, D.E., Perfield, J.W., Harvatine, K.J., Baumgard, L.H. 2008. Regulation of fat synthesis by conjugated linoleic acid: lactation and the ruminant model. *The Journal of Nutrition*, 138: 403-409.
- Benjamin, S., Spener, F. 2009. Conjugated linoleic acids as functional food: an insight into their health benefits. *Nutrition & Metabolism*, 6: 36-49.
- Beriain, M.J., Lizaso, G. 1997. Calidad de la carne de vacuno. “Vacuno de carne: aspectos claves”. Buxadé, C., Ed. Mundi-Prensa. Madrid. 493-510.
- Boccard, R.L., Dumont, B.L. 1976. La qualité des carcasses ovines. II Journées de recherche ovine et caprine. INRA-ITOVIC. París, Francia.
- Bonnet, M., Kopp, J. 1984. Dosage du collagène dans les tissus conjonctifs, la viande et les produits carnes. *Cahier Techniques INRA*, 5: 19–30.
- Boot, R.G., Bussink, A.P., Verhoek, M., de Boer, P.A.J., Moorman, A.F.M., Aerts, J.M.F.G. 2005. Marked Differences in Tissue-specific Expression of Chitinases in Mouse and Man. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 53: 1283–1292.
- Borsos, T., Rapp, H.J. 1965. Estimation of molecular size of complement components by sephadex chromatography. *The Journal of Immunology*, 94: 510-513.
- Bouchard, R.L., Laflamme, F., Lachance, B., Roy, G.L. 1980. Levels of protein and fat and type of protein in vealer rations. *Canadian Journal Animal Science*, 60: 523-530.
- Boulard, C. 1989. Degradation of bovine C3 by serine proteases from parasites *Hypoderma lineatum* (Diptera, Oestridae). *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 20: 387-398
- Bouton, P.E., Harris, P.V., Shortose, W.R. 1971. Effect of ultimate pH upon the water-holding capacity and tenderness of mutton. *Journal of Food Science*, 36: 435-439.

- Brambell, F.W.R. 1970. The transmission of passive immunity from mother to young. *Frontiers of Biology*, Vol.18, Ed: by Neuberger, North Holland Publishing Co., Amsterdam, Holanda.
- Brisson, G.J., Gris , L., Raymond, M., Castaignek, F., Goulet, J. 1979. Influence du regime alimentaire du veau de boucherie sur la composition de la carcasse, sur quelques propriétés organoleptiques et sur la composition de la viande. Univ. Laval, ste. Foy, Québec, Canadá.
- Broqua, C., de Simiane, M. 1983. Le lactosérum, aliment pour laitière (Liquid whey, a feed for dairy goat). *La Chevre*, 139: 37–42.
- Bryhni, E.A., Kjos, N.P, Ofstad, R., Hunt, M. 2002. Polyunsaturated fat and fish oil in diets for growing-finishing pigs: Effects of fatty acid composition and meat, fat, and sausage quality. *Meat Science*, 62: 1–8.
- Bullerman, L.B., Berry, E.C. 1966. Use of cheese whey for vitamin B12 production. I. Whey solids and yeast extract levels. *Journal of applied Microbiology*, 14: 353–355.
- Butler, J.E., Winter, A.J., Wagner, G.G. 1971. Symposium: Bovine immune system. *Journal of Dairy Science*, 54: 1309-1339.
- Calder, P.C. 2002. Dietary modification of inflammation with lipids. *Proceedings of the Nutrition Society*, 61: 345–358.
- Calder, P.C., 2006. n-3 Polyunsaturated fatty acids, inflammation and inflammatory diseases. *American Journal of Clinical Nutrition*, 83, 1505S–1519S.
- Cameron, P.U., Tabarias, H., Pulendran, B., Robinson, W., Dawkins, R.L. 1990. Conservation of the central MHC g Anome: PFGE mapping and RFLP analysis of complement, HSP70, and TNF genes in the goat. *Immunogenetics*, 31: 253-264.

- Cano, T., Peña, F., Martos, J., Domenech, V., Alcalde, M.J., García, A., Herrera, M., Rodero, E., Acero de la Cruz, R. 2003. Calidad de la canal y de la carne en corderos ligeros de raza Segureña. *Archivos de Zootecnia*, 52: 315-326.
- Caravaca, F.P., Castel, J.M., Guzmán, J.L., Delgado., M., Mena, Y., Alcalde, M.J., González, P. 2003. Bases de la Producción Animal. Manuales universitarios, nº61, Catálogo de publicaciones de la Universidad de Sevilla. RC impresiones, Sevilla, España.
- Cannon, D. 2009. From Fish Oil to Microalgae Oil ... A Win-Win Shift for Humans and Our Habitat. *Explore*, 5: 299-303.
- Castro, N. 2005. Inmunidad humoral y celular en el ganado caprino: uso de calostros alternativos, conservación e higienización del calostro y efecto de la inclusión de ácido linoleico conjugado en la dieta. Tesis Doctoral. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, España.
- Castro, N., Capote, J., Álvarez, S., Argüello, A. 2005. Effects of lyophilized colostrum and different colostrum feeding regimens on passive transfer of immunoglobulin G in Majorera goat kids. *Journal of Dairy Science*, 88: 3650-3654.
- Castro, N., Capote, J., Martín, D., Argüello, A. 2006. The influence of dietary conjugated linoleic acid on blood serum and colostrum immunoglobulin G concentration in female goats before and after parturition. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 90: 429-431.
- Castro, N., Acosta, F., Niño, T., Vivas, J., Quesada, E. 2008. The effects of diet and age on serum complement system activity in goat kids. *Livestock Science*, 119: 102-106.
- Castro, N., Capote, J., Morales-delaNuez , A., Rodríguez, C., Argüello, A. 2009. Effects of newborn characteristics and length of colostrums feeding period on passive immune transfer in goat kids. *Journal of Dairy Science*, 92: 1616–1619.

- Castro, N., Capote, J., Batista, M., Bruckmaier, R.M., Argüello, A. 2011. Effects of induced parturition in goats on immunoglobulin G and chitotriosidase activity in colostrum and plasma and on plasma concentrations of prolactin. *Domestic Animal Endocrinology*, 40: 192–196.
- Castro-Alonso, A., Castro, N., Capote, J., Morales-delaNuez, A., Moreno-Indias, I., Sánchez-Macias, D., Herraiez, P., Argüello, A. 2008. *Short communication*: Apoptosis regulates passive immune transfer in newborn kids. *Journal of Dairy Science*, 91: 2086-2088.
- Cattaneo, D., Dell’Orto, V., Varisco, G., Agazzi, A., Savoini, G. 2006. Enrichment in *n*-3 fatty acids of goat’s colostrum and milk by maternal fish oil supplementation. *Small Ruminant Research*, 64: 22–29.
- Cetin, Ö., Topcu, T. 2009. Effects of electrical stimulation on meat quality in goat carcasses. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 7: 101-105.
- Charpentier, J. 1967. *Calidad de la canal y de la carne*. C.N.R.Z. Jouy-en-Jossas, Francia.
- Chen, X.H., Cai, G.P. 2008. Molecular cloning and characterization of rat chitotriosidase. *DNA Sequence*, 19: 121-129.
- Chin, S. F., W. Liu, J. M. Storkson, Y. Ha, and M. W. Pariza. 1992. Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognized class of anticarcinogens. *Journal of Food Composition and Analysis* 5: 185–197.
- Christensen, L., Bertram, H.C., Aaslyng, M.D., Christensen, M. 2011. Protein denaturation and water–protein interactions as affected by low temperature long time treatment of porcine Longissimus dorsi. *Meat Science*, 88: 718–722.
- Chopra, V., Kashyap, S.K. 2001. Optimal conditions for assay of haemolytic component of camel complement in classical pathway. *Indian Journal of Animal Sciences*, 71: 1016-1020.

- Churruga, I., Fernández-Quintela, A., Puy Portillo, M. 2009. Conjugated linoleic acid isomers: differences in metabolism and biological effects. *Biofactors*, 35: 105-111.
- Chrystall, B.B., Devine, C.E. 1985. Electrical stimulation: its early development in New Zealand. *Advances in meat Reseacch*, 1: 73-119.
- C.I.E. 1976. Commission Internationale de l'Eclairage. 18th Session. Londres, 1975.
- Colomer-Rocher, F. 1973. Exigencias de calidad en la canal. *Anales Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias, serie Producción Animal*, 4: 117-132.
- Colomer-Rocher, F., Kirton, A.H. 1975. Las bases de la clasificación de canales ovinas. Análisis de la nueva clasificación de canales ovinas para exportación en Nueva Zelanda. *Información Técnica Económica Agraria*, 21: 26-27.
- Colomer-Rocher, F., Morand-Fehr, P., Kirton, A.H. 1987. Standard methods and procedures for goat carcass valuation, jointing and tissue separation. *Livestock Production Science*, 17: 149-159.
- Colomer-Rocher, F., Kirton, A.H., Mercer, G.J.K., Duganzich, D.M. 1992. Carcass composition of New Zealand Saanen goats slaughtered at different weights. *Small Ruminant Research*, 7: 161-173.
- Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Medio Ambiente. Gobierno de Canarias. 2009. <http://www.gobiernodecanarias.org/agricultura/otros/estadistica/>
- Constant, S.B., Leblanc, M.M., Klapstein, E.F., Beebe, D.E., Leneau, H.M., Nunier, C.J. 1994. Serum immunoglobulin G concentration in goats kids fed colostrum or a colostrum substitute. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 205: 1759-1762.
- Costa, R.G., Batista, A.S.M., Madruga, M.S., Neto, S.G., Ramos do Egypto Queiroga, R.C., Araújo Filho, J.T., Selaive Villarroel, A. 2009. Physical and chemical characterization of lamb meat from different genotypes submitted to diet with different fibre contents. *Small Ruminant research*, 81: 23-34.

- Cross, H.R., Carpenter, Z.L., Smith, G.C., 1973. Effects of intramuscular collagen and elastin on bovine muscle tenderness. *Journal of Food Science*, 38: 998-1003.
- Crouse, J.D., Koohmaraie, M., Seideman, S.D. 1991. The relationship of muscle fibre size to tenderness of beef. *Meat Science*, 30: 295-302.
- Davis, J.J., Sahlu, T., Puchala, R., Tesfai, K. 1998. Performance of Angora goat kids fed acidified milk replacer at two levels of intake. *Small Ruminant Research*, 28: 249–255.
- Demirel, G., Wachira, A. M., Sinclair, L. A., Wilkinson, R. G., Wood, J. D., Enser, M. 2004. Effects of dietary n-3 polyunsaturated fatty acids, breed and dietary vitamin E on the fatty acids of lamb muscle, liver and adipose tissue. *British Journal of Nutrition*, 91: 551–565.
- Dhanda., J.S., Taylor, D.G., Murray, P.J., 2003. Part 1. Growth, carcass and meat quality parameters of male goats: effects of genotype and live weight at slaughter. *Small Ruminant Research*, 50: 57-66.
- Díaz, M.T., Cañeque, V., Sánchez, C.I., Lauzurica, S., Pérez, C., Fernández, C., Álvarez, I., De la Fuente, J. 2011. Nutritional and sensory aspects of light lamb meat enriched in n-3 fatty acids during refrigerated storage. *Food Chemistry*, 124: 147–155.
- Di Rosa, M., Musumeci, M., Scuto, A., Musumeci, S., Malaguarnera, L. 2005. Effect of interferon-gamma, interleukin 10, lipopolysaccharide and tumor necrosis factor-alpha on chitotriosidase synthesis in human macrophages. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 43: 499-502.
- Di Rosa, M., Dell’Ombra, N., Zambito, A.M., Malaguarnera, M., Nicoletti, F., Malaguarnera, L. 2006. Chitotriosidase and inflammatory mediator levels in Alzheimer’s disease and cerebrovascular dementia. *European Journal of Neuroscience*, 23: 2648-2656.
- Dodds, A.W. (1993) “Small-scale preparation of complement components C3 and C4”. *Methods in Enzymology*, 223, 46-61.



- Dyerberg, J., Bang, H.O., Hjørne, N. 1975. Fatty acid composition of the plasma lipids in Greenland Eskimos. *The American Journal of Clinic Nutrition*, 28: 958-966.
- EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). 2009. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to EPA, DHA, DPA and maintenance of normal blood pressure (ID 502), maintenance of normal HDL-cholesterol concentrations (ID 515), maintenance of normal (fasting) blood concentrations of triglycerides (ID 517), maintenance of normal LDL-cholesterol concentrations (ID 528, 698) and maintenance of joints (ID 503, 505, 507, 511, 518, 524, 526, 535, 537) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006 *EFSA Journal* 2009; 7(9):1263
- EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition, and Allergies (NDA). 2010. Scientific Opinion on Dietary Reference Values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, *trans* fatty acids, and cholesterol. *EFSA Journal*, 8: 1461-1568.
- Eijk, M., Roomen, C.P., Bussink, A.P., Andrews, L., Blommaart, E.F., Sugar, A., Verhoeven, A.J., Boot, R.G., Aerts, J.M. 2005. Characterization of human phagocyte-derived chitotriosidase, a component of innate immunity. *International Immunology*, 17: 1505-1512.
- Enser, M., Scollan, N.D., Choi, N.J., Kurt, E., Hallett, K., Wood, J.D. 1999. Effect of dietary lipid on the content of conjugated linoleic acid (CLA) in beef muscle. *Animal Science*, 69: 143–146.
- Fabelo, F., López, J.L., Doreste, F., Capote, J.F. 1991. Peso al nacimiento de cabritos de la Agrupación Caprina Canaria (ACC), variedad majorera y su relación con el peso al destete al ser criados bajo lactancia artificial. XVI Jornadas Científicas de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia. Pamplona, España.

- Feidt, C., Bellut, B.J. 1996. Estimation of the free ion content of the 11°-13° *Longissimus dorsi* muscle during onset of rigor mortis in kid meat. *Viandes et Produits Carnes*, 17: 319–321.
- Feitoza, A.B., Pereira, A.F., da Costa, N.F., Ribeiro, B.G. 2009. Conjugated linoleic acid (CLA): effect modulation of body composition and lipid profile. *Nutrición Hospitalaria*, 24: 422-428.
- Fabelo, F.J., López, J.L, Argüello, A. 1992. Aproximación al estudio de la lactancia artificial en cabritos de la Agrupación Caprina Canaria. *O'Medico Veterinario*, 32: 48-50.
- Falagan, A. 1986. Note concernant l'influence de l'alimentation sur la croissance et les caractéristiques bouchères de chevreaux de races Murciano-Granadina. 37th EAAP Annual Meeting, Budapest, Hungary.
- FAO/WHO. 1997. Report of expert consultation. The role of dietary fats and oils in human nutrition. FAO. Rome.
- Fernández y García de Vinuesa, A. 2008. El sector ovino y caprino. Situación y acciones en marcha en el plan marco del plan integral del sector. *Cuadernos de la Tierra*. 12: 10-20.
- Fisher, L.J. 1981. The consumption of acid whey by lactating cows. *Canadian Journal of Animal Science*, 61: 209–211.
- Flamant, J.C., Bocard, R. 1966. Estimation de la qualité de la carcasse des agneaux de boucherie. *Annales de Zootechnia*, 15: 89-113.
- Folch, J., Lees, M, Sloane-Stanley, G.H. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, 193: 265-275.
- Forcada, F. 1985. Estudio etnológico y productivo de la agrupación Roya Bilbilitana. Tesis Doctoral. Universidad de Zaragoza.

- Forrest, J.C., Aberle, E.D., Hedrick, H.B., Judge, M.D., Merkel, R.A. 1979. Fundamentos de ciencia de la carne. Acribia. Zaragoza, 364.
- Fresno, M., N. Darmanin, J. Capote, and J. M. Garcia. 1992. Characterization of cheese produced by traditional methods in the Canary Islands. Archivos de Zootecnia, 41:657–660.
- Fujimoto, W., Suzuki, M., Kimura, K., Iwanaga, T. 2002. Cellular expression of the gut chitinase in the stomach of frogs *Xenopus laevis* and *Rana catesbeiana*. Biomedical Research, 23: 91-99.
- Fujimoto, W., Kimura, K., Suzuki, M., Syuto, B., Onuma, M., Iwanaga, T. 2004. Quantitative changes in serum concentration of bovine gut chitinase in Theileria infection. The Journal of Veterinary Medical Science, 66: 291-294.
- Galina, M. 1994. Zootécnia de Caprinos de Leche (Dairy Goat Management). In: , Agrosystem Editing, Colima, Mexico.p. 114.
- Galina, M.A., Palma, J.M., Pacheco, D., Morales, R. 1995. Effect of goat milk, cow milk, cow milk replacer and partial substitution of the replacer mixture with whey on artificial feeding of female kids. Small Ruminant Research, 17: 153-158.
- Gall, G.A.E. 1972. Genética del crecimiento. En desarrollo y Nutrición Animal. Editado por E.S.E. Hafez. Ed. Acribia. Zaragoza.
- Garrido, M.D., Bañón, S. 2001. Medida del pH. Monografías INIA: GANADERA, 1: 145-155.
- Gianfrancesco, F., Musumeci, S. 2004. The evolutionary conservation of the human chitotriosidase gene in rodents and primates Cytogenetic and Genome Research, 105: 54–56.
- Gillis, M.H., Duckett, S.K., Sackmann, J.R. 2004. Effects of supplemental rumen protected conjugated linoleic acid or corn oil on fatty acid composition of adipose tissues in beef cattle. Journal of Animal Science, 82: 1419–27.

- Givens, I., Gibbs, R.A. 2008. Current intakes of EPA and DHA in European populations and the potential of animal-derived foods to increase them. *Proceedings of the Nutrition Society*, 67: 273–280.
- Goll, D.E., Hoekstra, W.G., Bray, R.W. 1963. Age-associated changes in muscle composition. The isolation and properties of a collagen residue from bovine muscle. *Journal of Food Science*, 28: 503-509.
- Gou, P., Comaposada, J., Amau, J. 2002. Meat pH and meat fibre direction effects on moisture diffusivity in salted ham muscles dried at 5° C. *Meat Science*, 61: 25-31.
- Granados, M. V. 2000. Influencia del genotipo y la dieta sobre la calidad de la canal y de la carne porcina. Efecto de a-tocoferol acetato sobre la estabilidad a la oxidación de la carne. PhD Diss. Universidad de Murcia.
- Grancher, D., Jean-Blain, C. 1982. Utilisation du lactosérum dans l'alimentation de la vache laitière (Utilization of whey in dairy cow feeding). *Revue de Médecine Vétérinaire*, 133: 473–479.
- Grau, R., Hamm, R. 1953. Eine einfache methode zur bestimmung der wasserbindung in muskel. *Naturwissenschaften* 40: 29-30.
- Green, P., Yavin, E. 1998. Mechanisms of docosahexaenoic acid accretion in the fetal brain. *Journal of Neuroscience Research*, 52: 129–136.
- Greife, H.A. 1984. Enteraler und intermediärer Nukleinsäurestoffwechsel. *Übers Tierernährg*, 12: 1–44.
- Guerrault, P. 1990. Apport de colostrum: plusieurs methodes. *La Chevre*, 180: 30-31.
- Gutiérrez, M.J., Herrera, M., Rodero, E. 1994. Comportamiento tático de los cabritos en lactancia artificial. XX Jornadas Científicas de la Sociedad Española Ovinotecnia y Caprinotecnia. Madrid, España, 503-508.

- Gutiérrez, M.J., Peña, F., Rodero, E., Herrera, M. 1995. Características de la canal de cabritos de raza Florida Sevillana. XX Jornadas Científicas de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia, Madrid, España, 521-526.
- Gutiérrez, C.B. 2007. Inmunoglobulinas. En: Manual de Inmunología Veterinaria. Prentice Hall. Pearson Educación S.A. Madrid, España, 697
- Hacala, S. 1989. Du petit lait pour les chèvres (Liquid whey for goats). *La Chevre*, 168: 30–31.
- Hamm, R. 1960. Biochemistry of meat hydration. *Advanced Food Research*, 10: 355-463.
- Hamm, R. 1977. Physical, chemical and biological changes in food caused by thermal processing. Ed. T. Hoyem & O. Kvale. Applied Science Publishers, Londres, Inglaterra. 101.
- Hanebutt, F.L., Demmelmair, H., Schiessl, B., Larque, E., Koletzko, B. 2008. Long chain polyunsaturated fatty acid (LC-PUFA) transfer across the placenta. *Clinical Nutrition*, 27: 685–693.
- Hawkins, R.R., Kemp, J.D, Ely, D.G., Fox, J.D., Moody, W.G., Vimini, R.J. 1985. Carcass and meat characteristics of crossbred lambs born to ewes of different genetic types and slaughtered at different weights. *Livestock Production Science*, 12: 241-250.
- Hawthorne, K.M., Abrams, S.A., Heird, W.C. 2009. Docosahexaenoic Acid (DHA) Supplementation of Orange Juice Increases Plasma Phospholipid DHA Content of Children. *Journal of the American Dietetic Association*, 109: 708-712.
- Hedrick, H.B., Aberle, E.D., Forrest, J.C., Judge, M.D., Merkel, R.A. 1994. Principles of meat science (3<sup>a</sup> ed.) Kendall and Hunt Publishing Co. Dubuque, Iowa, Estados Unidos.
- Herber, S.M., Van Elswyk, M.E. 1996. Dietary Marine Algae Promotes Efficient Deposition of n-3 Fatty Acids for the Production of Enriched Shell Eggs. *Poultry Science*, 75: 1501-1507.

- Hernández-Castellano, L.E., Torres, A., Alavoine, A., Ruiz-Díaz, M.D., Argüello, A., Capote, J., Castro, N. 2011. Effect of milking frequency on milk immunoglobulin concentration (IgG, IgM and IgA) and chitotriosidase activity in Majorera goats. *Small Ruminant Research*, 98: 70-72.
- Hess, B.W., Moss, G.E., Rule, D.C. 2008. A decade of developments in the area of fat supplementation research with beef cattle and sheep. *Journal of Animal Science*, 86: E188-E204.
- Hill, F. 1966. The solubility of intramuscular collagen in meat animals of various ages. *Journal of Food Science*, 31: 161-166.
- Hill, T.M., Bateman, H.G., Aldrich, J.M., Schlotterbeck, R.L., Tanan, K.G. 2008. Optimal Concentrations of Lysine, Methionine, and Threonine in Milk Replacers for Calves Less than Five Weeks of Age. *Journal of Dairy Science*, 91: 2433–2442.
- Hogg, B.W., Catcheside, L.M., Mercer, G.J.K., Duganzich, D.M. 1989. Meat yields and chemical composition of muscle in New Zealand goats. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, 49: 153-156.
- Hogg, B.W., Mercer, G.J.K., Mortiner, B.J., Kirton, A.H. and Duganzich, D.M. 1992. Carcass and meat quality attributes of commercial goats in New Zealand. *Small Ruminant Research*, 8: 243-256.
- Hogue, D.E., Brooks, D., Rotter, M., Turillo, L., Brown, D. 1980. Artificial rearing and early weaning of kids. Pags. 69-70 in *Proceedings of the Cornell Nutrition Conference*, Ithaca, NY, Estados Unidos.
- Hollak, C.E., van Weely, S., van Oers, M.H., Aerts, J.M. 1994. Marked elevation of plasma chitotriosidase activity. A novel hallmark of Gaucher disease. *Journal of Clinical Investigation*, 93: 1288-1292.

- Hood, D.E. 1980. Factors affecting the rate of metmyoglobin accumulation in pre-packaged beef. *Meat Science*, 4: 247-265.
- Horcada, A., Beriain, M.J., Purroy, A., Lizaso, G., Chasco, J. 1998. Effect of sex on meat quality of Spanish lamb breeds (Lacha and Rasa Aragonesa). *Animal Science*, 67: 541-547.
- Hornick, J.L., Van Eenaeme, C., Gérard, O., Dufrasne, I., Istasse, L. 2000. Mechanisms of reduced compensatory growth. *Domestic Animal endocrinology*, 19: 121-132.
- Horrocks, L.A., Yeo, Y.K. 1999. Health benefits of docosahexaenoic acid (DHA) *Pharmacological Research*, 40: 211-225.
- Huber, J.T. 1975. Fish Protein Concentrate and Fish Meal in Calf Milk Replacers. *Journal of Dairy Science*, 58: 441-447.
- Hwang, I.H., Devine, C.E., Hopkins, D.L. 2003. The biochemical and physical effects of electrical stimulation on beef and sheep meat tenderness. *Meat Science*, 65: 677-691.
- Imhoff-Kunsch, B., Stein, A.D., Villalpando, S., Martorell, R., Ramakrishnan, U. 2011. Docosahexaenoic acid supplementation from mid-pregnancy to parturition influenced breast milk fatty acid concentrations at 1 month postpartum in Mexican women. *Journal of Nutrition*, 14: 321-326.
- Inal, J.M., Hui, K.M., Miot, S., Lange, S., Ramirez, M.I., Schneider, B., Krueger, G., Schifferli, J.A. 2005. Complement C2 Receptor Inhibitor Trispanning: A Novel Human Complement Inhibitory Receptor. *The Journal of Immunology*, 174: 356-366.
- ISO 8589. 2010. Sensory analysis. General guidance for the design of test rooms
- Jeffcott, L.B. 1971. Duration of permeability of the intestine to macromolecules in the newly-born foal. *Veterinary Record*, 88: 340-341.

- Johnson, D.D., McGowan, C.H., Nurse, G., Anous, M.R. 1995. Breed type and sex effects on carcass traits, composition and tenderness of young goats. *Small Ruminant Research*, 17: 57-63.
- Jicha, G.A., Markesbery, W.R. 2010. Omega-3 fatty acids: potential role in the management of early Alzheimer's disease. *Journal of Clinical Interventions in Aging*, 7: 45-61.
- Juárez, M., Horcada, A., Alcalde, M.J., Valera, M., Polvillo, O., Molina, A. 2009. Meat and fat quality of unweaned lambs as affected by slaughter weight and breed. *Meat Science*, 83: 308-313.
- Kadim, E.T., Mahgoub, O., Al-Ajmi, D.S., Al-Maqbaly, R.S., Al-Saqri, N.M., Ritchie, A. 2004. An evaluation of the growth, carcass and meat quality characteristics of Omani goat breeds. *Meat Science*, 66: 203-210.
- Kadim, I.T., Mahgoub, O., Al-Kindi, A., Al-Marzooqi, W., Al-Saqri, N.M. 2006. Effects of transportation at high ambient temperatures on physiological responses, carcass and meat quality characteristics of three breeds of Omani goats. *Meat Science*, 73: 626-634.
- Kadim, I.T., Mahgoub, O., Al-Marzooqi, W., Khalaf, S., Al-Sinawi, S.S.H., Al-Amir, I. 2010. Effects of transportation during the hot season, breed and electrical stimulation on histochemical and meat quality characteristics of goat *Longissimus* muscle. *Animal Science Journal*, 81: 352–361.
- Kamada, H., Nonaka, I., Ueda, Y., Murai, M. 2007. Selenium Addition to Colostrum Increases Immunoglobulin G Absorption by Newborn Calves. *Journal of Dairy Science*, 90: 5665–5670.
- Kaur, G., P. S. Panesar, M. B. Bera, and H. Kumar. 2009. Hydrolysis of whey lactose using CTAB-permeabilized yeast cells. *Bioprocess and Biosystem Engineering*. 32:63–67.
- Kehoe, J.M. 1971. Subclass of bovine IgG. *Journal of Dairy Science*, 54: 1317.



- Kehoe, S.I., Heinrichs, A.J., Baumrucker, C.R., Greger, D.L. 2008. Effects of Nucleotide Supplementation in Milk Replacer on Small Intestinal Absorptive Capacity in Dairy Calves. *Journal of Dairy Science*, 91: 2759–2770.
- Kempster, A. J., Cuthbertson, A, Harrington, G. 1982. Carcasse evaluation in livestock breeding, production and marketing. Granada publishing. Londres, Reino Unido. 306.
- Khanal, R.C., Dhiman, T.R. 2004. Biosynthesis of Conjugated Linoleic Acid (CLA): A Review. *Pakistan Journal of Nutrition*, 3: 72-81.
- Kijlstra, A., Jeurissen, S.H., Koning, K.M. 1984. Complement inhibitors in tears of different species. *Experimental Eye Research*, 38: 57-62.
- Kirton, A. H. 1988. Goat meat production in Asia. Proceeding of a workshop held in Tando Jam. Ed: c. Devendra. Tando Jam, Pakistán.
- Knight, P.A., Pate, J., Smith, W.D., Miller, H.R.P. 2007. An ovine chitinase-like molecule, chitinase-3 like-1 (YKL-40), is upregulated in the abomasums in response to challenge with the gastrointestinal nematode, *Teladorsagia circumcincta*. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 120: 55–60.
- Klont, R.E., Barnier, V., Brocks, L., Van Cruijningen, C., Van Dijk, A., Eikelenboom, G., Hoving-Bolink, A.H., Oliver, A. 1998. Colour, colour stability and ageing rate of different veal muscles in relation to preslaughter blood haemoglobin content. ID-DLO Report, ID-DLO, Lelystad, Países Bajos.
- Koohmaraie, M., Shackelford, S.D., Wheeler, T.L., Lonergan, S.M., Doumit, M.E. 1995. A muscle hypertrophy condition in lamb (callipyge): characterization of effects on muscle growth and meat quality traits. *Journal of Animal Science*, 73: 3596-3607.
- Kor, A., Keskin, S. 2011. Quality and Sensory Evaluation for Goat Meat Using Generalized Procrustes Analysis. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10: 1313-1316.

- Korhonena, H., Marnilaa, P., Gilla, H.S. 2000. Milk immunoglobulins and complement factors. *British Journal of Nutrition*, 84: 75-80.
- Krahenbuhl, J.P., Campiche, M.A. 1969. Early stages of intestinal absorption of specific antibodies in the newborn. *Journal of Cell Biology*, 42: 345-365.
- Kris-Etherton, P.M., Taylor, D.S., Yu-Poth, S. Huth, P., Moriarty, K., Fishell, V., Hargrove, R.L., Zhao, G., Etherton, T.D. 2000. Polyunsaturated fatty acids in the food chain in the United States. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 71: 179–188.
- Kris-Etherton, P. M., Grieger, J.A., Etherton, T.D. 2009. Dietary reference intakes for DHA and EPA Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids, 81: 99-104. Laemmli, U.K. (1970) “Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4”. *Nature*, 15, 680-685.
- Lalle´s, J.P. 1993. Nutritional and anti-nutritional aspects of soybean and field pea proteins used in veal calf production: A review. *Livestock Production Science*, 34: 181–202.
- Lascelles, A.K., Beh, K.J., Husband, A.K. 1980. Origin of antibody in mammary secretion with particular reference to the IgA system. *Advance Experimental Medical Biology*, 137: 493-511.
- Law, S.K.A., Reid, K.B.M. 1995. *Complement*. 2<sup>nd</sup> Edition, Oxford University Press, Oxford, Reino Unido.
- Lawrie, R.A. 1966. *Meat Science*. Pergamon Press, Oxford.
- Lawrie, R.A. 1991. The eating quality of meat. Ed: R.A. Lawrie *Meat Science* (5th ed). Pergamon press, Oxford, Reino Unido. 56–60, 188 y 206.
- Lawrie, R.A. 1998. Glucolisis post mortem. *Ciencia de la carne*. Ed. Acribia S.A. Zaragoza. España. 77-79.

- Lecce, J.G., Morgan, D.O. 1962. Effect of dietary regimen on cessation of intestinal absorption of large molecules (closure) in the neonatal pig and lamb. *Nutrition Journal*, 78: 263-268.
- Lee, J.H., Kannan, G., Eega, K.R., Kouakou, B., Getz, W.R. 2008. Nutritional and quality characteristics of meat from goats and lambs finished under identical dietary regime. *Small Ruminant Research*, 74: 255-259.
- Leonard, S.G., Sweeney, T., Bahar, B., Lynch, B.P., O'Doherty, J.V. 2010. Effect of maternal fish oil and seaweed extract supplementation on colostrums and milk composition, humoral immune response, and performance of suckled piglets. *Journal of Animal Science*, 88: 2988–2997.
- Leskanich, C.O., Matthews, K.R., Warkup, C.C., Noble, R.C., Hazzledine, M. 1997. The effect of dietary oil containing (n-3) fatty acids on the fatty acid, physicochemical, and organoleptic characteristics of pig meat and fat. *Journal of Animal Science*, 75: 673–683.
- Lewis, G.S., Wulster-Radcliffe, M.C., Herbeinc, J.H. 2008. Fatty acid profiles, growth, and immune responses of neonatal lambs fed milk replacer and supplemented with fish oil or safflower oil. *Small Ruminant Research*, 79: 167–173.
- Li, R.W., Houb, Y., Li, C., Gasbarrea, L.C. 2010. Localized complement activation in the development of protective immunity against *Ostertagia ostertagi* infections in cattle. *Veterinary Parasitology*, 174: 247–256.
- Lien, E.L., Hammond, B.R. 2011. Nutritional influences on visual development and function. *Progress in Retinal and Eye Research*, 30: 188-203.
- Lin, T.M., Halbert, S.P., Cort, R., Blaschke, J. 1983. An Enzyme-Linked Immunoassay for Circulating Immune Complexes Using Solid Phased Goat C1q. *Journal of Immunological Methods*, 63: 187-205.

- Linscott, W.D., Triglia, R.P. 1981. The bovine complement system *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 137: 413-430.
- Lock, A. L., B. M. Teles, J. W. Perfield II, D. E. Bauman, and L. A. Sinclair. 2006. A conjugated linoleic acid supplement containing trans-10, cis-12 reduces milk fat synthesis in lactating sheep. *Journal of Dairy Science*, 89: 1525–1532.
- Lock, A.L., Rovai, M., Gipson, T.A., de Veth, M.J., Bauman, D.E. 2008. A Conjugated Linoleic Acid Supplement Containing Trans-10, Cis-12 Conjugated Linoleic Acid Reduces Milk Fat Synthesis in Lactating Goats. *Journal of Dairy Science*, 91: 3291–3299.
- Logan, E.F., Penhale, W.J., Jones, R.A. 1972. Changes in the serum immunoglobulin levels of colostrum-fed. *Research in Veterinary Science*, 14: 394-397.
- Logan, E.F., Pearson, G.R. 1978. The distribution of immunoglobulins in the intestine of the neonatal calf. *Annales de Recherches Veterinaries*, 9: 319-326.
- López, M. 1987. Calidad de la canal y de la carne en los tipos lechal, ternasco y cordero de la raza lacha y estudio de su desarrollo. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria. Zaragoza.
- López, M. 1988. Calidad de la canal y de la carne en los tipos lechal, ternasco y cordero de la raza Lacha y estudio de su desarrollo. Tesis Doctoral, Universidad de Zaragoza.
- López, J.L., Fabelo, F., Argüello, A., Capote, J.F. 1991. Estudio de la aplicación de lactancia artificial en cabritos pertenecientes a la Agrupación Caprina Canaria (ACC). XVI Jornadas Científicas de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia. Pamplona, España.
- López, J.L., Capote, J., Argüello, A. 2001. Estudio de la lactancia artificial en la Agrupación Caprina Canaria. *Pequeños ruminates*, 2: 28-41.

- Lopez-Ferrer, S., Baucells, M.D., Barroeta, A.C., Grashorn, M.A. 2001.  $n$ -3 Enrichment of chicken meat. 1. Use of very long-chain fatty acids in chicken diets and their influence on meat quality: Fish oil. *Poultry Science*, 80: 741–752.
- Luo, J., Cameron, M., Sahlu, T. 1998. Early growth of Boer x Angora, Boer x Spanish, and Spanish goat kids. *Journal of Dairy Science*, 81: 267
- Luo, J., Sahlu, T., Cameron, M., Goetsch, A.L. 2000. Growth of Spanish, Boer X Angora and Boer X Spanish goat kids fed milk replacer. *Small Ruminant Research*, 36: 189-194.
- Madruca, M.S., Arruda, S.G.B., Nascimento, J.A. 1999. Castration and slaughter age effects on nutritive value of the ‘mestiço’ goat meat. *Meat Science*, 52: 119-125.
- Madruca, M.S., Narain, N., Souza, J.G., Costa, R.G. 2001. Castration and slaughter age effects on fat components of ‘Mestiço’ goat meat. *Small Ruminant Research*, 42: 77-82.
- Malaguarnera, L., Musumeci, M., Di Rosa, M., Scuto, A., Musumeci, S. 2005. Interferon-gamma, tumor necrosis factor- alpha, and lipopolysaccharide promote chitotriosidase gene expression in human macrophages. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 19: 128-132.
- Malaguarnera, L., Di Rosa, M., Zambito, A.M., Dell’Ombra, N., Nicoletti, F., Malaguarnera, M. 2006. Chitotriosidase gene expression in Kupffer cells of non-alcoholic fatty liver disease patients. *Gut*, 55: 1313-1320.
- Manso, T., Bodas, R., Castro, T., Jimeno, V., Mantecon, A. R. 2009. Animal performance and fatty acid composition of lambs fed with different vegetable oils. *Meat Science*, 83: 511–516.
- Marichal, A., Castro, N., Capote, J., Zamorano, M. J., Argüello, A. 2003. Effects of live weight at slaughter (6, 10 and 25 kg) on kid carcass and meat quality. *Livestock Production Science*, 83: 247-256.

- Marinova P., Banskalieva, V., Tzvetkova, V. 2005. Body and carcass composition, and meat quality of kids fed fish oil supplemented diet. *Options Méditerranéennes*, 67: 151–156.
- Marinova, P., Popova, T., Banskalieva, V., Raicheva, E., Ignatova, M., Vasileva, V. 2007. Effect of Fish Oil Supplemented Diet on the Performance, Carcass Composition and Quality in Lambs. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 13: 729-737.
- MARM, 2009. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. [http://www.marm.es/app/vocwai/documentos/Adjuntos\\_AreaPublica/Caracterización del sector ovino y caprino en España.pdf](http://www.marm.es/app/vocwai/documentos/Adjuntos_AreaPublica/Caracterización_del_sector_ovino_y_caprino_en_España.pdf)
- Marra, M.V., Boyar, A.P. 2009. Position of the American Dietetic Association: nutrient supplementation. *Journal of American Dietetic Association*, 109: 2073-2085.
- Martínez-Cerezo, S., Sañudo, C., Panea, B., Medel, I., Delfa, R., Sierra, I., Beltrán, J.A., Cepero, R., Olleta, J.L. 2005. Breed, slaughter weight and ageing time effects in physico-chemical characteristics of lamb meat. *Meat Science*, 69: 325-333.
- Mastellos, D., Prechl, J., László, G., Papp, K., Oláh, E., Argyropoulos, E., Franchini, S., Tudoran, R., Markiewski, M., Lambris, J.D., Erdei, A. 2004. Novel monoclonal antibodies against mouse C3 interfering with complement activation: description of fine specificity and applications to various immunoassays. *Molecular Immunology*, 40: 1213–1221.
- Matheswaran, K., Raj, G.D., Nachimuthu, K. 2003. Demonstration of Alternative and Classical Complement Pathway Activity in Colostrum from Buffalo (*Bubalus bubalis*). *Veterinary Research Communications*, 27: 445-452.
- Matsouka, A., Furokawa, N., Takahashi, T. 1997. Carcass traits and chemical composition of meat in male and female goats. *The Journal of Agricultural Science*, 68: 4421-4435.

- Mayilyan, K.R., Kang, Y.H., Dodds, A.W., Sim, R.B. 2008. The Complement System in Innate Immunity. *Innate immunity of Plants, Animals, and Humans. Nucleic Acids and Molecular Biology*. Ed. H. Heine, Berlín, Alemania.
- McCarthy, E.F., McDougall, E.I. 1953. Absorption of immune globulin by the young lamb after ingestion of colostrum. *Biochemical Journal*, 55: 177-182.
- McKay, E.J. 1981. A simple two-step procedure for the purification of plasma C1q from different animal species., 3: 303-308.
- McMeekan, C.P. 1939. The Cambridge block test for fat lamb. *Annales Meat of Sheep Farmers, Proceeding VIII*: 52-57.
- Meadus, W.J., Duff, P., Uttaro, B., Aalhus, J.L., Rolland D.C., Gibson L.L., Dugan, M.E.R. 2010. Production of Docosahexaenoic Acid (DHA) Enriched Bacon. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58: 465–472.
- Meckenzie, H.A. 1970. Milk protein. *Academic Press, New York, USA, Vol. I*, 45-123.
- Menger, M., Sowery, R.D., Aston, W.P. 1999. Isolation and characterization of the eighth component of the bovine complement system. *American Journal of Veterinary Research*, 60: 1474-1477. Menger, M., Aston, W.P. 2003. Isolation and characterization of factor I of the bovine complement system. *American Journal of Veterinary Research*, 64: 989-93.
- Miltenburg, G.A.J., Wensing, T., Smulders, F.J., Breukink, H.J. 1992. *Journal of Animal Science*, 70: 2766-2772.
- Moghadasian, M. 2008. Advances in Dietary Enrichment with n-3 Fatty Acids. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48: 402–410.
- Monin, G., Ouali, A. 1991. Muscle differentiation and meat quality. *En Developments in meat science*. Ed: Lawrie, R.A., Londres, Reino Unido. 89.

- Montgomery, T.D., Leid, R.W., Wescott, R.B. 1986. Interaction of bovine complement with *Fasciola hepatica*. *Veterinary Parasitology*, 19: 55-65.
- Morales-delaNuez, A., Castro, N., Moreno-Indias, I., Juste, M.C., Sánchez-Macías, D., Briggs, H., Capote, J., Argüello, A. 2009. Effects of a reputed immunostimulant on the innate immune system of goat kids. *Small Ruminant Research*, 85: 23–26.
- Morand-Fehr, P., Hervieu, J., Bas, P. 1982. Feeding of young goats. In: *Proceedings of the III International Conference on Goat Production and Disease*. International Goat Association. Tucson. Estados Unidos. 253-283
- Morel D'Arloux, F. 1982. Le lactosérum: un aliment pour les vaches laitières (Liquid whey: a feed for dairy cows). *Elevage Bovin*, 121: 47–50.
- Morrill, J.L., Melton, S.L., Dayton, A.D., Guy, E.J., Pallansek, M.J. 1971. Evaluation of milk replacers containing a soy protein concentrate and high whey. *Journal of Dairy Science*, 54: 1060-1063.
- Mowlew, A. 1982. Rearing dairy goats using milk replacer. In: *Proceedings of the III International Conference on Goat Production and Disease*. International Goat Association. Tucson. Estados Unidos. 491.
- Mueller, R., Boothby, J.T., Carrol, E.J., Panico, L. 1983. Changes of complement values in calves during the first month of life. *American Journal of Veterinary Research*, 44: 747-750.
- Musumeci, M., Malaguarnera, L., Simporé, J., Barone, R., Whalen, M., Musumeci, S. 2005. Chitotriosidase activity in colostrum from African and Caucasian women. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 43: 198-201.
- Navarro, M.C.G, Ramos Morales, E., De la Torre Adarve, G., Fernández Navarro, J. R., Rodríguez Osorio, M., Gil Extremera, F., Sanz Sampelayo, M.R. 2008. Growth of Pre-ruminant Kid Goats and the Composition of Carcass Fat Deposits: Effects of Providing



- a PUFA-rich Fat in the Milk Replacer and Influence of the Kidding Season. Food Science Technology International, 14: 85-94.
- Neville, T.L., Caton, J.S., Hammer, C.J., Reed, J.J., Luther, J.S., Taylor, J.B., Redmer, D.A., Reynolds, L.P., Vonnahme, K.A. 2010. Ovine offspring growth and diet digestibility are influenced by maternal selenium supplementation and nutritional intake during pregnancy despite a common postnatal diet. Journal of Animal Science, 88: 3645-3656.
- Newbold, R.P., Small, L.M. 1985. Electrical stimulation of *post-mortem* glycolysis in the *Semitendinosus* muscle of sheep. Meat Science, 12: 1-16.
- Noguchi, H., Bromfenbrenner, J. 1911. The comparative merits of various complements and amboceptors in the serum diagnosis of syphilis. Journal of Experimental Medicine, 13: 78-91.
- Nonnecke, B. J., Foote, M. R., Miller, B. L., Beitz, D. C., Horst., R. L. 2010. *Short communication*: Fat-soluble vitamin and mineral status of milk replacer-fed dairy calves: Effect of growth rate during the preruminant period. Journal of Dairy Science, 93: 2684–2690.
- Nute, G.R., Richardson, R.I., Wood, J.D., Hughes, S.I., Wilkinson, R.G., Cooper, S.L. 2007. Effect of dietary oil source on the flavour and the colour and lipid stability of lamb meat. Meat Science, 77: 547-555.
- Offer, G., Trinick, J. 1983. The mechanism of water holding in meat: the swelling and shrinking of myofibrils. Meat Science, 8: 245-281.
- Offer, G., Knight, P. 1988. The structural basis of water-holding in meat; Part 1: General principles and water uptake in meat processing. In Developments in Meat Science 4, ed: R. Lawrie, Elsevier, Oxford, Reino Unido. 63-171.

- Olaho-Mukani, W., Munyua, W.K., Njogu, A.R. 1996. Haemolytic complement and class-specific antibody levels in goats during infection with *Trypanosoma evansi* and after treatment with diminazene aceturate. *Small Ruminant Research*, 22: 241-247.
- Oliván, M, Mocha, M., Martínez, M.J., García, M.J., Noval, G., Osoro, K. 2001. Análisis químico de la carne. Metodología para el estudio de la calidad de la canal y de la carne en rumiantes. *Monografías INIA: Ganadera*, 1: 181-204.
- Opstvedt, J., 1968. Foringa. (Feeding.) In: Geitehald. (Goatkeeping.) Oslo, pp. 74-120.
- Ordóñez, J.A., Cambero, M.I., Fernández, L., García, M.L., García de Fernando, G., De la Hoz, L., Selgas, M.D. 1998. Cambios post mortem del músculo. En *Tecnología de los Alimentos. Volumen II. Alimentos de origen animal*. Ed. Síntesis S.A. Madrid. España. 170-184.
- Or-Rashid, M.M., Odongo, N.E., Wright, T.C., McBride, B.W. 2009. Fatty acid profile of bovine milk naturally enhanced with docosahexaenoic acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57: 1366-1371.
- Or-Rashid, M.M., Fisher, R., Karrow, N., Alzahal, O., McBride, B.W. 2010. Fatty acid profile of colostrum and milk of ewes supplemented with fish meal and the subsequent plasma fatty acid status of their lambs. *Journal of Animal Science*, 88: 2092-102.
- Oswald, I.P., Lantier, F., Bourgy, G. 1990. Classical and alternative pathway haemolytic activities of ovine complement: variations with age and sex. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 24: 259-266.
- Ostrowska, E., Muralitharan, M., Cross, R.F., Bauman, D.E., Dunshea, F.R. 1999. Dietary conjugated linoleic acids increase lean tissue and decrease fat deposition in growing pigs. *Journal of Nutrition*, 129: 2037-2042.
- Ott, R. L., Longnecker, M. 2001. *An Introduction to Statistical Methods and Data Analysis*, 5th edition. Duxbury Press, Pacific Grove, CA.

- Ouma, J.O., Olaho-Mukani, W., Wishitemi, B.E.L., Guya, S.O. 1997. Changes in classical pathway complement activity in dromedary camels experimentally infected with *Trypanosoma evansi*. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 57: 135-140.
- Ouma, J.O., Olaho-Mukani, W., Mutani, A., Wishitemi, B.E.L., Guya, S.O. 1998. Dromedary complement (C3): Purification, characterisation and quantitation of its levels during experimental *Trypanosoma evansi* infection in camels. *Journal of Camel Practice and Research*, 5: 213-218.
- Oyekan, P.P., Barta, O. 1980. Hemolytic assay for goat (caprine) and swine (porcine) complement. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 1: 317-328.
- Palsson, H. 1939. Meat qualities in the sheep with special reference to Scottish breeds and crosses. I. Carcass measurements and “sample joints” as indices of quality and composition. *Journal of Agricultural Science*, 29: 544-625.
- Panousis, N., Roubies, N., Karatzias, H., Frydas, S., Papasteriadis, A. 2001. Effect of selenium and vitamin E on antibody production by dairy cows vaccinated against *Escherichia coli*. *Veterinary Record*, 149: 643–646.
- Peña, F., Gutiérrez, M.J., Herrera, M., Rodero, E., 1994. Crecimiento postnatal y rendimientos canal en cabritos de raza Florida Sevillana. *Archivos de Zootecnia*, 43: 81-91.
- Peña, F., Perea, J., García, A., Acero, R. 2007. Effects of weight at slaughter and sex on the carcass characteristics of Florida suckling kids. *Meat Science*, 75: 543–550.
- Pierce, A.E. 1955. Electrophoretic and immunological studies on sera from calves from birth to weaning. *The Journal of Hygiene*, 53: 247-260.
- Pérez, P. 1982. Comparación de tres sistemas de alimentación para el periodo crecimiento-engorda de corderos (Comparison of three feeding systems for the growth-fattening period in lambs). Tesis doctoral, Universidad de Chile.

- Pérez, P., Maino, M., Morales, M. S. Soto, A. 2001. Effect of goat milk and milk substitutes and sex on productive parameters and carcass composition of Creole kids. *Small Ruminant Research*, 42: 87-94.
- Pisula, A., Slowinski, M., Pawlowski, P., Bidwel-Purebska, K., Piotrowski, J. 1994. Chemical composition, physicochemical properties and sensory quality of the meat of “milk” goats reared to a body weight of 16kg. *Gospodarka-Miesna*, 46: 15-17.
- Pla, M. 2001. Medida de la capacidad de retención de agua. *Monografías INIA: Ganadera*, 1:173-182.
- Rabbani, S., Irfan, M., Muhammad, K., Ahmed, Z.Q. 1990. Studies on the transfer of maternal immunoglobulins in kids. *Archiva Veterinaria Bucaresti*, 19: 53-59.
- Radunz, A. E., Wickersham, L. A., Loerch, S. C., Fluharty, F. L., Reynolds, C. K., Zerby, H. N. 2009. Effects of dietary polyunsaturated fatty acid supplementation on fatty acid composition in muscle and subcutaneous adipose tissue of lambs. *Journal of Animal Science*, 87: 4082–4091.
- Rainard, P., Sarradin, P., Paape, M.J., Poutrel, B. 1998. Quantification of C5a/C5a(desArg) in bovine plasma, serum and milk. *Veterinary Research*, 29: 73-88.
- Rainard, P. 2003. The complement in milk and defense of the bovine mammary gland against infections. *Veterinary Research*, 34: 647–670.
- Rainard, P., Riollet, C. 2006. Innate immunity of the bovine mammary gland. *Veterinary Research*, 37: 369–400.
- Ramírez, A., Quiles, A., Hevia, M.L. 1998. Comportamiento de los cabritos de raza Murciano-Granadina en su primera hora de vida. *Archivos de zootecnia*, 47: 639-647.
- Raper, N.R., Cronin, F.J., Exler, J. 1992. Omega-3 fatty acid content of the US food supply. *Journal of the American College of nutrition*, 11: 304-308.

- Rapetti, L., Falaschi, U., Lodi, R., Vezzoli, F., Tamburini, A., Greppi, G. F., Enne, G. 1995. The effect of liquid whey fed to dairy goats on milk yield and quality. *Small Ruminant Research*, 16: 215-220.
- Raven, A.M. 1970. Fat in milk replacers for calves. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 21: 352–359.
- Renner, M. 1982. La couleur de la viande et sa mesure. *Bulletin Technique Centre de Recherches Zootechniques et Vétérinaires de Theix- INRA*, 47: 47-54.
- Resconi, V.C., Campo, M.M., Font i Furnols, M., Montossi, F., Sañudo, C. 2010. Sensory quality of beef from different finishing diets. *Meat Science*, 86: 865–869.
- Ricklin, D., Hajishengallis, G., Yang, K., Lambris, J.D. 2010. Complement: a key system for immune surveillance and homeostasis. *Nature Immunology*, 11: 785-797.
- Riediger, N.D., Othman, R.A., Suh, M., Moghadasian, M.H. 2009. A systemic review of the roles of n-3 fatty acids in health and disease. *Journal of American Dietetic Association*, 109: 668-79.
- Ripoll, G., Alcalde, M. J., Horcada, A., Panea, B. 2011. Suckling kid breed and slaughter weight discrimination using muscle colour and visible reflectance. *Meat Science*, 87: 151–156.
- Robinson, T. J., Binet, F. E., Lison, A., Doig, G. 1956. Fat lamb studies in Vintoria. An assessment of the relative value of various external measurements for differentiating between various grades of export lamb carcasses. *Australian Journal of Agricultural Research*, 7: 345-365.
- Rodrigues, S., Teixeira, A. 2009. Effect of sex and carcass weight on sensory quality of goat meat of Cabrito Transmontano. *Journal of Animal Science*, 87: 711-715.

## **Bibliografía**

- Rodríguez, C., Castro, N., Capote, J., Morales-Delanuez, A., Moreno-Indias, I., Sánchez-Macías, D., Argüello, A. 2009. Effect of colostrum immunoglobulin concentration on immunity in Majorera goat kids. *Journal of Dairy Science*, 92: 1696–1701.
- Rojas, A., López-Bote, C., Rota, A., Martín, L., Rodríguez, P.L., Tovar, J.J. 1994. Fatty acid composition of Verata goat kids fed either goat milk or comercial milk replacer. *Small Ruminant Research*, 14: 61-66.
- Roy, J.H.B. 1990. Miscellaneous infections, metabolic disorders, nutritional deficiencies and poisoning. En *The Calf. Vol. 1: Management of Health*. Ed. Butterworth's, Londres, Reino Unido. 181–210.
- Ruiz de Huidobro, F., Cantero, M.A, Cañeque, V., Velasco, S., Manzanares, C., Gayan, J., Laurica, S., Pérez, C. 1998. Características instrumentales y sensoriales de la carne de corderos lechales de raza Talaverana. *ITEA, Serie Producción Animal*, 13: 21-29.
- Rule, D. C., W. Wu, J. R. Busboom, F. C.Hinds and C. J. Kercher, 1989. Dietary canola seeds alter the fatty acid composition of bovine subcutaneous adipose tissue. *Nutrition Reports International*, 39: 781-786.
- Sahai, A.S., Manocha, M.S. 1993. Chitinases of fungi and plants: their involvement in morphogenesis and host-parasite interaction. *FEMS Microbiology Reviews*, 11: 317-338.
- Sahlu, T., Carneiro, H., El Shaer, H.M., Fernández, J.M. 1992. Production Performance and Physiological Responses of Angora Goat Kids Fed Acidified Milk Replacer. *Journal of Dairy Science*, 75: 1643-1650.
- Saldanha, L.G., Salem, N. Brenna, J.T. 2009. Workshop on DHA as a required nutrient: Overview. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 81: 233–236.

- Salem, N. 1989. Omega-3 fatty acids: molecular and biochemical aspects. En: *New Protective Roles of Selected Nutrients in Human Nutrition*, Ed.: Spiller, J. Scala, Alan E. Liss, Nueva York, Estados Unidos. 109–228.
- Santos, V.A.C., Silva, S.R., Azevedo, J.M.T. 2008. Carcass composition and meat quality of equally mature kids and lambs. *Journal of Animal Science*, 86: 1943-1950.
- Santos, V. A. C., Silva, J. A., Silvestre, A. M. D., Silva, S. R., & Azevedo, J. M. T. 2008. The use of multivariate analysis to characterize carcass and meat quality of goat kids protected by the PGI “cabrito de Barroso”. *Livestock Science*, 116: 370–381.
- Santos-Silva, J., Mendes, I.A., Bessa, R.J.B. 2002. The effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs. *Livestock Production Science*, 76: 17-25.
- Sanz Sampelayo, M.R., Hernández-Clua, O.D., Naranjo, J.A., Gil, F., Boza, J. 1990. Utilization of goat milk vs. Milk replacer for Granadina Goat Kids. *Small Ruminant Research*, 3: 37-46.
- Sanz Sampelayo, M.R., Allegretti, L., Ruiz Mariscal, I., Gil Extremera, F., Boza, J. 1995. Dietary factors affecting the maximum feed intake and the body composition of pre-ruminant kid goats of the Granadina breed. *British Journal of Nutrition*, 74: 335-345.
- Sanz Sampelayo, M.R., Allegretti, L., Gil Extremera, F., Boza, J. 1996. Growth and development of pre-ruminant kid goats of the Granadina breed. Use of a milk replacer determining maximum feed intake. En: *Proceedings of VI International Conference on Goats*. Vol. II. International Academic Publishers. 677–680.
- Sanz Sampelayo, M.R., Allegretti, L., Gil Extremera, F., Boza, J. 2003. Growth, body composition and energy utilisation in pre-ruminant goat kids Effect of dry matter concentration in the milk replacer and animal age. *Small Ruminant Research*, 49: 61–67.

- Sanz Sampelayo, M. R., Fernández, J. R., Ramos, E., Hermoso, R., Gil Extremera, F., Boza, J. 2006. Effect of providing a polyunsaturated fatty acid-rich protected fat to lactating goats on growth and body composition of suckling goat kids. *Animal Science*, 82: 337–344.
- Sañudo, C. 1980. Calidad de la canal y de la carne en el ternasco aragonés. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza.
- Sañudo, C., Sierra, I. 1986. Calidad de la canal en la especie ovina. *Ovino*, One S.A., 127-153.
- Sañudo, C., Delfa, R., González, C., Alcalde, M.J., Casas, M., Santolaria, P., Vigil, E. 1992. Calidad de la carne del ternasco. *Información Técnica Económica Agraria*, 88: 221-227.
- Sañudo, C. 1992. La calidad organoléptica de la carne con especial referencia a la especie ovina: factores que la determinan, métodos de medida y causas de variación. Curso Internacional de Producción Ovina. SIA, Zaragoza.
- Sañudo, C., Sierra, I. 1993. Calidad de la canal y de la carne en la especie ovina. *Ciencias Veterinarias* 8. Ed. Consejo General de Colegios Veterinarios de España.
- Sañudo, C., Alvarez, F., Campo, M., Olleta, J. L., Delfa, R., & González, C. 1995. Influence de la note d'état corporel des chèvres adultes sur qualité de la viande. *Options Méditerranéennes*, 27: 171–177.
- Sañudo, C., Santolaria, M.P., María, G., Osorio, M., Sierra, I. 1996. Influence of carcass weight on instrumental and sensory lamb meat quality in intensive production systems. *Meat Science*, 42: 195-202
- Sañudo, C., Campo, M.M., Sierra, I., María, G.A., Olleta, J.L., Santolaria, P. 1997. Breed effect on carcass and meat quality of suckling lambs. *Meat Science*, 46: 357-365.
- Sañudo, C., Sánchez, A., Alfonso, M. 1998. Small ruminant production systems and factors affecting lamb meat quality. *Meat Science*, 49: S29-S64.



- Sañudo C, Sánchez A, Sierra I, Fisher A. 1999. ¿Qué tipo de carne ovina prefiere el consumidor? ITEA, 20: 149-151.
- Savell, J.W., Cross, H.R.R., Smith, G.C. 1986. Percentage ether extractable fat and moisture content of beef *Longissimus* muscle as related to USDA marbling score. Journal of Food Science, 51: 838-840.
- Savoini, G., Agazzi, A., Invernizzi, G., Cattaneo, D., Pinotti, L., Baldi, A. 2010. Polyunsaturated fatty acids and choline in dairy goats nutrition: Production and health benefits. Small Ruminant Research, 88: 135–144.
- Saxena, V., Misra, D., Sehhi, M., Singh, S. 1974. Effect of age, sex, season and liveweight on DP of goats. Journal of Food Science and Technology, 11: 290–293.
- Scheideler, S.E., Froning, G.O. 1996. The Combined Influence of Dietary Flaxseed Variety, Level, Form, and Storage Conditions on Egg Production and Composition Among Vitamin E-Supplemented Hens. Poultry Science, 75: 1221-1226.
- Schingoethe, D.J., Ludens, F., Tucker, W.L., Dash, S.K. 1976. Evaluation of dried whey in concentrato mixtures for lactating dairy cows. Journal of Dairy Science, 59: 1466–1470.
- Schingoethe, D.J., Skyberg, E.W. 1981. Lactational response to dried whey in concentrate mixture fed to dairy cows. Journal of Animal Science, 64: 135–139.
- Schlimme, E., Martin, D., Meisel, H. 2000. Nucleosides and nucleotides: Natural bioactive substances in milk and colostrum. British of Journal Nutrition, 84: 59–68.
- Schloss, Z. 1911. Patologie des Wachstoms, Berlín S. Korgen. 9.
- Schlumbaum, A., Mauch, F., Vögeli, U., Boller, T. 1986. Plant chitinases are potent inhibitors of fungal growth. Nature, 324: 365-367.

- Schmitz, G., Ecker, J. 2008. The opposing effects of n<sub>3</sub> and n<sub>6</sub> fatty acids. *Progress in Lipid Research*, 47: 147-155.
- Schönhusen, U., Kuhla, S., Zitnan, R., Wutzke, K.D., Huber, K., Moors, S. Voigt, J.2007. Effect of a Soy Protein-Based Diet on Ribonucleic Acid Metabolism in the Small Intestinal Mucosa of Goat Kids. *Journal of Dairy Science*, 90: 2404-2412.
- Scollan, N.G., Choi, N. J., Kurt, E., Fisher, A. V., Enser, M. Wood, J.D. 2001. Manipulation of the fatty acid composition of muscle and adipose tissue in beef cattle. *British Journal of Nutrition*, 85: 115-124.
- Seegraber, F. J., Morrill, J. L. 1986. Effect of protein source in calf milk replacers on morphology and absorptive ability of small intestine. *Journal of Dairy Science*, 69: 460-469.
- Seelen, M.A., Roos, A., Wieslander, J., Mollnes, T.E., Sjöholm, A.G., Wurzner, R., Loos, M., Tedesco, F., Sim, R.B., Garred, P., Alexopoulos, E., Turner, M.W., Daha, M. R. 2005. Functional analysis of the classical, alternative, and MBL pathways of the complement system: standardization and validation of a simple ELISA. *Journal Immunology Methods*, 296: 187-198.
- Sellier, 1988. Aspects génétiques des qualités technologiques et organoleptiques de la viande chez le porc. *Journées Rech. Porcine en France*, 20: 227-242.
- Sentandreu, M.A., Coulis, G., Ouali, A. 2002. Role of muscle endopeptidases and their inhibitors in meat tenderness. *Trends in food Science and Technology*, 13: 400-421.
- Sheard, P. R., Enser, M., Wood, J. D., Nute, G. R., Gill, B. P., Richardson, R. I. 2000. Shelf life and quality of pork and pork products with raised n-3 PUFA. *Meat Science*, 55: 213-221.

- Sheridan, R., Ferreira, A.V., Hoffman, L.C. 2003. Production efficiency of South African Mutton Merino lambs and Boer goat kids receiving either a low or a high energy feedlot diet. *Small Ruminant Research*, 50: 75-82.
- Sherman, D.M., Arendt, T.D., Gay, J.M., Maefsky, V.A. 1990. Comparing the effects of four colostral preparations on serum Ig levels of newborn kids. *Veterinary Medicine*, 85: 908-913.
- Sierra, I. 1970. La conformación del ganado ovino y su influencia en el rendimiento canal y en el despiece. *Anales de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Zaragoza, España*, 5: 587-596.
- Sierra, I. 1977. Economía de las empresas ovinas Plenary Paper, II Jornadas de la Sociedad Española de Ovinotecnia. Mérida, Actas: 157-177.
- Sierra, I. 1980. Apuntes de Producción Animal. Facultad de Veterinaria de la Universidad de Zaragoza, España.
- Sim, R.B., Day, A.J., Moffatt, B.E., Fontaine, M. 1993. Complement factor I and cofactors in control of complement system convertase enzymes. *Methods in Enzymology*, 223: 13-35.
- Sim, R.B., Malhotra, R. 1994. Interactions of carbohydrates and lectins with complement. *Biochemical Society Transactions*, 22: 106-111.
- Sinclair, L.A., Weerasinghe, W.M., Wilkinson, R.G., de Veth, M.J., Bauman, D.E. 2010. A Supplement Containing Trans-10, Cis-12 Conjugated Linoleic Acid Reduces Milk Fat Yield but Does Not Alter Organ Weight or Body Fat Deposition in Lactating Ewes. *Journal of Nutrition*, 140: 1949–1955.
- Siso, M. I. G. 1996. The biotechnological utilization of cheese whey: A review. *Bioresource Technology*, 57: 1-11.

- Skjevdal, T. 1974. Milk feeding of kids. In: Report of the Department of Animal Nutrition, Agricultural University of Norway, 173: 19.
- Snell, H. 1996. Schlachtkörpermerkmale von ziegenlämmern der rassen bunte Deutsche edelziege, buren-und kaschmirkiege sowie kreuzungen. Fleischwirtschaft, 76: 1335-1339.
- Solomon, M.B., Kemp, J.D., Moody, W.G. 1980. Effect of breed and slaughter weight on physical, chemical and organoleptic properties of lamb carcasses. Journal of Animal Science 51, 1102-1107.
- Solomon, M.B., Lynch, G.P.B., Berry, W. 1986. Influence of Animal Diet and Carcass Electrical Stimulation on the Quality of Meat from Youthful Ram Lambs. Journal of Animal Science, 62: 139-146.
- Spears, J.W. 2000. Micronutrients and immune function in cattle. Proceedings of the Nutrition Society, 59: 587-594.
- Stevens, D.A., Brammer, H.A., Meyer, D.W., Steiner, B.H. 2000. Recombinant human chitinase. Current Opinion in Anti-Infective Investigational Drugs, 2: 399-404.
- Stobo, I.J.F., Roy, J.H.B., Ganderton, P. 1979. The effect of changes in concentrations of dry matter and of fat and protein in milk substitute diets for veal calves. The Journal of Agricultural Science, 93: 95-110.
- Succi, G., Enne, G., Beccaro, P.V. 1985. In: Forolazione Initiative Zoofrofilattiche e Zootecniche, Ed: Studio preliminare sull'impiego del siero di latte nell'alimentazione del vitellone (Preliminary study on the whey used in the young bulls feeding). Proceedings of the VI Congresso Nazionale A.S.P.A., 71-79. Perugia, Italia.
- Suzuki, M., Morimatsu, M., Yamashita, T., Iwanagac, T., Syutoa, B. 2001. A novel serum chitinase that is expressed in bovine liver. FEBS Letters, 506: 127-130.

- Swan, J.E., Esguerra, C.M., Farouk, M.M. 1998. Some physical, chemical and sensory properties from three New Zealand goat breeds. *Small Ruminant Research*, 28: 273-280.
- Tabel, H. 1982. Activation of the alternative pathway of bovine complement by *Trypanosoma congolense*. *Parasite Immunology*, 4: 329-335.
- Tacchini, F., Reborá, C., Van Den Bosch, S., Gascón, A., Pedrani, M. 2006. Formulation and testing of a whey-based kid goat's milk replacer. *Small Ruminant Research*, 63: 274-281.
- Tatum, J.D., Smith, G.C., Carpenter, Z.L. 1982. Interrelationships between marbling, subcutaneous fat thickness and cooked beef palatability. *Journal of Animal Science*, 54: 777-784.
- Tejón, D., López, C., Piñán, J., De la Fuente, J., Sanz, M., Fernández, A., Rey., A. 1995. Contribución al estudio del crecimiento en relación con el sistema de cría de la raza caprina Guadarrama. XX Jornadas Científicas de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia, Madrid, España, 389-400.
- Thwaites, C. J., Yeates, N. T. M., Rogue, R. F. 1964. Objective appraisal of intact lamb and mutton carcasses. *Journal of Agricultural Science*, 63: 415-420.
- Tizard, I., 1992. Inmunidad en el feto y en el neonato. En *Inmunología Veterinaria*, 4ª Edición. Interamericana McGraw-Hill. México D.F. Méjico, 558.
- Todaro, M., Corrao, A., Alicata, M. L., Schinelli, R., Giaccone, P., Priolo, A. 2004. Effects of litter size and sex on meat quality traits of kid meat. *Small Ruminant Research*, 54: 191-196.
- Toral, P.G., Hervás, G. Gómez-Cortés, P., Frutos, P., Juárez, M., de la Fuente, M. A. 2010. Milk fatty acid profile and dairy sheep performance in response to diet supplementation

with sunflower oil plus incremental levels of marine algae. *Journal of Dairy Science*, 93: 1655-1667.

Tornberg, E. 1996. Biophysical aspects of meat tenderness. *Meat Science*, 43: 175-191.

Tshabalala, P.A., Strydom, P.E., Webb, E.C., Kock, H.L. 2003. Meat quality of designated South African indigenous goat and sheep breeds. *Meat Science*, 65: 563-70.

Tuma, H.J., Venable, J.H., Wuthier, P.R., Henrickson, R.L. 1962. Relationship of fiber diameter to tenderness and meatiness as influenced by bovine age. *Journal of Animal Science*, 21: 33-36.

Ulbricht, T.L.V., Southgate, D.A.T. 1991. Coronary heart disease: seven dietary factors. *The lancet*, 338: 985-992.

UNE-EN ISO 4120. (2004). Análisis sensorial. Metodología. Prueba triangular (ISO 4120:2004) Asociación Española de Normalización y Certificación (AENOR) Inc. Análisis sensorial. Van Niekerk, W. A., Casey, N. H., 1988. The Boer goat. II. Growth, nutrients requirements, carcass and meat quality. *Small Ruminant Research*, 1: 355-368.

Vatansever, L., Kurt, E., Enser, M., Nute, G. R., Scollan, N. D., Wood, J. D., Richardson, R.I. 2000. Shelf life and eating quality of beef from cattle of different breeds given diets differing in n<sub>3</sub> polyunsaturated fatty acid composition. *Animal Science*, 71: 471-482.

Venugopal, G., Ram, G.C., Bansal, M.P. 1992. Determination of optimal in vitro conditions for caprine alternative complement pathway assay. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 32: 359-364.

Vermorel, M., Bouvier, J.C., Geay, Y. 1980. Energy utilisation by growing calves; effects of age and milk intake. *Proceedings of 8<sup>th</sup> Symposium on Energy Metabolism*, Ed: Cambridge, L.E. Mount, Butterworths, Londres, Reino Unido.

## **Bibliografia**

- Visioli, F., Rise, P., Barassi, M.C., Marangoni, F., Galli, C. 2003. Dietary intake of fish vs. formulations leads to higher plasma concentrations of n-3 fatty acids. *Lipids*, 38: 415-418.
- Volcani, R., Gordin, S., Nitsan, Z. 1974. High-in whey milk replacers for bull calves. *Feedstuffs*, **47**: 21.
- Volcani, R., Ben-Asher, A. 1974. Growth Response of Pail-Fed Heifers to an All-Whey Milk Replacer. *Journal of Dairy Science*, 57: 567-575.
- Walport, M.J. 2001. Complement: first of two parts. *New England Journal Medicine*, 344: 1058-1066.
- Wang, Y., Jones, P.J. 2004. Dietary conjugated linoleic acid and body composition. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79: 1153–1158.
- Weijersh, A., Van De Kamerj, H. 1965. Alteration of intestinal bacterial flora as a cause of diarrhoea. *Nutrition Abstracts and Reviews*, 35: 591-604.
- Wheeler, T.L., Davis, G.W., Clark, J.R., Ramsey, C.D., Rourke, T.J. 1989. Composition and palatability of early and late maturing beef breed-types. *Journal of Animal Science*, 67: 142-151.
- Whipple, G., Koohmaraie, M., Dikeman, M. E., Crouse, J. D., Hunt, M. C., Klemm, R. D. 1990. Evaluation of attributes that affect longissimus muscle tenderness in *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle. *Journal of Animal Science*, 68: 2716-2728.
- Wistuba, T. J., Kegley, E. B., Apple, J. K., Davis, M. E. 2005. Influence of fish oil supplementation on growth and immune system characteristics of cattle. *Journal of Animal Science*, 83: 1097–1101.
- Wood, J. D., Richardson, R. I., Nute, G. R., Fisher, A. V., Campo, M. M., Kasapidou, E., Sheard, P. R., Enser, M. 2003. Effects of fatty acids on meat quality: a review. *Meat Science*, 66: 21–32.

- Wynn, R.J., Daniel, Z.C.T.R., Flux, C.L., Craigon, J., Salter, A.M., Buttery, P.J. 2006. Effect of feeding rumen-protected conjugated linoleic acid on carcass characteristics and fatty acid composition of sheep tissues. *Journal of Animal Science*, 84: 3440–3450.
- Wyszecki, G., Stiles, W.S. 1982. *Color science: Concepts and Methods, Quantitative Data and Formulae*. Wiley- Interscience Publication, New York, Estados Unidos. 950.
- Yang, S. T., Zhu, H., Li, Y., Hong, G. 1994. Continuous propionate production from whey permeate using a novel fibrous bed bioreactor. *Biotechnology and Bioengineering*, 43: 1124–1130.
- Yang, S.T., Silva, E.M.. 1995. Novel products and new technologies for use of a familiar carbohydrate, milk lactose. *Journal of Dairy Science*, 78: 2541-62,
- Yeom, K.H., Van Trierum, G., Hovenier, R., Schellingerhout, A.B., Lee, K.W., Beynen, A.C. 2002. Fatty acid composition of adipose tissue in goat kids fed milk replacers with different contents of  $\alpha$ -linolenic and linoleic acid. *Small Ruminant Research*, 43: 15-22.
- Yeom, K.H., Schonewille, J.T., Everts, H., Lee, K.W, Van Trierum, G., Beynen, A.C. 2005. Growth performance and body composition of goat kids fed milk replacers with increasing levels of linoleic acid. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 89: 29-34.
- Yoffey, J.M., Courtice, F.C. 1970. *Lymphatics lymph and the lymphomyeloid complex*. Academic Press, Londres, 213 pp.
- Young, O.A., Braggins, T.J. 1993. Tenderness of ovine *Semimembranosus*- Is collagen concentration or solubility the critical factor?. *Meat Science*, 35: 213-222.
- Young, O.A., Braggins, T.J. 1993. Tenderness of ovine *Semimembranosus*- Is collagen concentration or solubility the critical factor?. *Meat Science*, 35: 213-222.
- Zipfel, P.F., Skerka, C. 2009. Complement regulators and inhibitory proteins. *Nature Review Immunology*, 9: 729-40.



**7. CAPÍTULO 1**

**Farm and factory production of goat cheese whey results in distinct chemical  
composition**

J. Dairy Sci. 92:4792–4796

doi:10.3168/jds.2009-2215

© American Dairy Science Association, 2009.

## Farm and factory production of goat cheese whey results in distinct chemical composition<sup>1</sup>

I. Moreno-Indias,\* N. Castro,\* A. Morales-delaNuez,\* D. Sánchez-Macías,\* P. Assunção,† J. Capote,‡ and A. Argüello\*<sup>2</sup>

\*Department of Animal Science, Las Palmas de Gran Canaria University, Arucas 35413, Spain

†Instituto Tecnológico de Canarias, Santa Lucía de Tirajana, Las Palmas

‡Canary Agronomic Science Institute, La Laguna, Tenerife, Spain

### ABSTRACT

To analyze differences in fat and protein content in cheese whey (CW) manufactured in cheese-making factories and farms, goat CW samples were obtained from 60 cheese-making farms and 20 cheese factories. Gross composition of samples was analyzed by using an MIRIS device (MIRIS Inc., Uppsala, Sweden), whey protein composition was subjected to electrophoretic analysis, and fatty acid composition was analyzed via gas chromatography. Goat CW from farms contained higher dry matter content (70.6 vs. 50.8 g/L, farms vs. cheese factories, respectively) and a higher fat percentage (10.5 vs. 1.2% over dry matter, farms vs. cheese factories, respectively) than CW from cheese factories. Analysis of individual proteins showed that CW from farms contained higher concentrations of lactoferrin (0.4 vs. 0.2 mg/mL of CW, farms vs. cheese factories, respectively) and caprine serum albumin (0.6 vs. 0.4 mg/mL of whey, farms vs. cheese factories, respectively) than CW from cheese factories. No differences were observed in the fatty acid profile. The main fatty acids present in goat CW were C16:0, C18:1, C14:0, and C18:0. Thus, the origin of CW affects gross composition and the protein profile, but not the fatty acid profile.

**Key word:** cheese whey, goat, farm, factory

### INTRODUCTION

Cheese production around the world occurs mainly in cheese factories, but in some areas, small-scale production of cheese using traditional methods is predominant. Whey is the major by-product in the manufacture of

cheese or CN from milk, representing 80 and 90% of the volume of transformed milk. Whey contains approximately 4.5% (wt/vol) lactose, 0.8% (wt/vol) protein, 1% (wt/vol) salts, and 0.1 to 0.8% (wt/vol) lactic acid (Yang et al., 1994). The quantity of cheese produced in the Canary Islands of Spain in 2007 was  $20 \times 10^6$  kg, and approximately 80% of this quantity was produced on farms (Fresno et al., 1992). Goat cheeses are manufactured with fresh milk, and coagulation times vary from 30 to 60 min. The cheese whey (CW) produced using traditional methods is usually spilled into the sinks.

Kaur et al. (2009) defined CW as a pollutant because of its high biological oxygen demand and because disposal can be costly. However, because of the significant amount of lactose present in whey and whey permeates, it can be treated with the enzyme lactase and concentrated into syrup for use as a sweetener in various food products. Lactose consists of a high proportion (75%) of the total whey solids and is the main reason dairy whey is considered one of the most polluting food by-products or co-products (biochemical oxygen demand = 35 g/kg; chemical oxygen demand = 60 g/kg; Bullerman and Berry, 1966; Siso, 1996).

This work was performed in the Canary Islands of Spain, where CW is traditionally manufactured on farms, rather than in cheese factories. Thus, knowledge of differences between the 2 sources of CW is essential. No data regarding differences in CW composition related to origin are currently available. Thus, the current study was carried out to compare the chemical composition (proximate analysis, main protein distribution, fatty acid profile) of CW produced on farms and in cheese factories.

### MATERIALS AND METHODS

#### Samples

Eighty goat CW samples were obtained from 60 cheese-making farms and 20 cheese factories in the

Received March 15, 2009.

Accepted June 8, 2009.

<sup>1</sup>This work was supported by grant AGL 2006-08444/GAN from the Spanish Government.

<sup>2</sup>Corresponding author: aarguello@dpat.ulpgc.es

Canary Islands. Samples were obtained by the cheese manufacturer and refrigerated for 24 h, after which they were transported to the laboratory and frozen ( $-80^{\circ}\text{C}$ ) for further analysis. Briefly, the following cheese technologies were used on farms and factories. After milking on farms, unprocessed goat milk is coagulated with traditional rennet (from goat kids), and after 45 to 60 min, curds are cut with wire knives. The procedure in cheese factories is similar. Goat milk is pasteurized ( $75^{\circ}\text{C}$  for 15 s), and after the milk is cooled, coagulation is performed with commercial rennet (50% chymosin, 50% pepsin). After 30 to 45 min, curds are cut with wire knives.

### Compositional Analysis

Total protein, fat, lactose, and TS were measured in CW samples with an MIRIS device (MIRIS Inc., Uppsala, Sweden). The MIRIS device is based on the mid-infrared technique approved by the International Dairy Federation (Brussels, Belgium) and AOAC International (Gaithersburg, MD). No special calibrations for whey were necessary.

### Electrophoresis

Whey protein from untreated liquid whey was subjected to SDS-PAGE analysis by the method of Laemmli (1970; 4.2% stacking gel, 19:1 acrylamide:bisacrylamide; 12.5% separating gel, 24:1 acrylamide:bisacrylamide) by using a Protean II Cell electrophoresis unit (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA). Lactoferrin, serum caprine albumin,  $\alpha_s$ -CN,  $\beta$ -CN,  $\kappa$ -CN,  $\beta$ -LG, and  $\alpha$ -LA (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) were used as standards. The exponential curve generated using the standards encompassed the range of protein concentrations encountered in all samples. Samples and appropriate standards were denatured at  $100^{\circ}\text{C}$  for 5 min in Tris-HCl, pH 6.8, containing 1% SDS (wt/vol) and 4% 2-mercaptoethanol. Immediately after loading the samples and standards, gels were run at 30 mA until the leading bands were approximately 1 cm from the bottom of the gel. Gels were immediately removed from the plates and placed in a fixative solution of 40% methanol (vol/vol) and 10% TCA (wt/vol). Gels were then stained as described by Basch et al. (1985). Gels were destained in a solution containing 40% methanol (vol/vol) and 10% acetic acid (vol/vol). Protein bands were quantified with a Quantity One apparatus (Bio-Rad Laboratories). The integrated densities of the sample bands were compared with known standards and converted to percentage of total whey protein from the gross compositional analysis. Values for individual whey proteins are the means of data from 3 gels.

### Fatty Acids

Milk fat was extracted according to the Röse-Gottlieb method, and fatty acid methyl esters were obtained as described by Chin et al. (1992). Separation and quantification of the methyl esters were carried out on a gas chromatograph (Varian 3600; Varian, Harbor City, CA) equipped with a split-splitless injector and a flame-ionization detector. Methyl ester separation was carried out on a capillary column SP2560 (100 m  $\times$  0.25 mm i.d., 0.25  $\mu\text{m}$  phase thickness; Supelco Inc., Bellefonte, PA) with helium as the carrier gas (331 kPa). The injector and detector temperatures were set at  $290^{\circ}\text{C}$ . The injection was done in split mode with a 1:100 split ratio. The temperature of the column was initially held at  $75^{\circ}\text{C}$  for 1.5 min, increased to  $190^{\circ}\text{C}$  at a rate of  $8^{\circ}\text{C}/\text{min}$ , held at this temperature for 25 min, increased again to  $230^{\circ}\text{C}$  at  $15^{\circ}\text{C}/\text{min}$ , and held for an additional 4.5 min at  $230^{\circ}\text{C}$ . Each fatty acid was identified with reference to the retention time of the standards (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) and quantified with respect to the following internal standards: C13:0 (C10:0 to C17:0) and C19:0 (C18:0 to C18:3).

### Statistical Analysis

Results were analyzed by one-way ANOVA with SAS software (version 9.00; SAS Institute Inc., Cary, NC). A *P*-value of  $<0.05$  was considered to be statistically significant.

## RESULTS AND DISCUSSION

The gross composition of CW is shown in Table 1. The CW produced on farms had significantly more fat than the CW produced in cheese factories. Heino et al. (2007) observed reduced fat percentages in whey powder when UF was used. Similar to the results observed by Heino et al. (2007), the curd-cutting process for goat cheeses produced on farms was less effective than that for cheeses produced in cheese factories because the temperature and curd particle size are automatically controlled in cheese factories. The technology used in factories improved curd fat recovery.

No differences were observed in protein percentages from CW produced on farms or in cheese factories (Table 1). Similar protein percentages have been reported (Yang et al., 1994; Casper et al., 1998) for CW from goats, sheep, and cows. Although Heino et al. (2007) reported a small difference in protein percentage depending on the cheese type and cheese production technology, our results demonstrated substantial differences in individual protein composition (Table 2).

Table 1. Gross composition of goat cheese whey (based on TS) from farms and cheese factories

Item	Farm mean	Cheese factory mean	SEM
Fat (%)	10.5 <sup>a</sup>	1.2	0.90
Protein (%)	14.6	18.9	2.34
Lactose (%)	70.5	74.2	5.11
DM (g/L)	70.6 <sup>a</sup>	50.8	6.12

<sup>a</sup>In a row, farm value is statistically different from cheese factory value ( $P < 0.05$ ).

No differences were observed in lactose percentages from CW produced on farms or in cheese factories. Similar results from goat cheeses were reported by Casper et al. (1998). Heino et al. (2007) reported a lower lactose percentage in cow CW.

The protein composition data for CW are shown in Table 2. Lactoferrin content from the CW produced on farms was higher than that produced in cheese factories. Steijns and Van Hooijdonk (2000) reported a lower lactoferrin content (0.02 to 0.2 g/L) from CW derived from cow milk. Hiss et al. (2008) recently reported a lower concentration of lactoferrin in goat milk, but the measurement method (ELISA) was different from that used in the present study. Thermal procedures are used in cheese factories, and the resistance of lactoferrin to thermal denaturation depends on its iron saturation. The more compact conformation of holo-lactoferrin improves its heat stability compared with the more open apo- form of the protein (Paulsson et al., 1993; Kussendrager, 1994). The HTST pasteurization (72°C, 15 s) used in cheese factories has a limited effect on lactoferrin denaturation (Sanchez et al., 1992). However, Paulsson et al. (1993) and Brisson et al. (2007) reported that HTST pasteurization induces partial denaturation of the native protein, affecting its lower unfolding transition by 40 to 50%. Additionally, Law (1995) reported albumin and lactoferrin denaturation percentages of approximately 20 (30 min at 70°C) and 90% (30 min at 80°C), which is congruent with the data shown in Table 2.

The concentration of caprine serum albumin in goat CW produced on farms was significantly higher than that produced in cheese factories, and was higher than that reported in a previous study on goat CW (Casper et al., 1998). Fox and McSweeney (1998) reported that whey proteins are susceptible to denaturation by several processes, including heat. Law (1995), reporting on goat milk, and Odriozola-Serrano et al. (2006), reporting on cow milk, observed a reduction in BSA in heat-treated milk. The introduction of pasteurization in cheese factories may be responsible for the reduction in caprine serum albumin concentration in the goat CW from cheese factories observed in this study.

Casein protein is retained in cheese curds; therefore, the percentage in CW found in our study was very low. Smithers (2008) reported a similar percentage of CN in cow CW as that observed in goat CW (<0.1 mg/mL) in this study. However, Regester and Smithers (1991) reported a higher proportion of CN in CW protein concentrate (10 to 25% of total protein). No other data on the percentage of CN in CW is currently available.

$\beta$ -Lactoglobulin is the main protein component in goat CW, and no difference was observed in the concentration of this protein in CW produced on farms or in cheese factories.  $\beta$ -Lactoglobulin represented approximately 50% of the total protein present in CW, in agreement with results reported by Regester and Smithers (1991) and, more recently, in a report by Smithers (2008) examining bovine CW. Sannier et al. (2000) reported that the concentration of  $\beta$ -LG in goat CW was 3.2 mg/mL, which is similar to our observations (Table 2).  $\beta$ -Lactoglobulin has been reported to be relatively heat labile (Varnam and Sutherland, 1994), and Odriozola-Serrano et al. (2006) observed a reduction in  $\beta$ -LG after thermal treatment of cow milk. According with Law (1995),  $\beta$ -LG from goat milk is likely to be more resistant to thermal treatment than  $\beta$ -LG from cow milk; however, Montilla et al. (1995) reported the opposite results. Differences in AA sequences may explain the different heat stabilities expressed by Law (1995).

The concentration of  $\alpha$ -LA in CW was not affected by CW origin and represents the second highest concentration of protein in goat CW. Similar concentrations of  $\alpha$ -LA were observed by Sannier et al. (2000) in goat CW and by Regester and Smithers (1991) and Smithers (2008) in cow CW. Celestino et al. (1997) and Odriozola-Serrano et al. (2006), in cow milk, and Law (1995), in goat CW, reported that the order of heat stability of the whey proteins was  $\alpha$ -LA >  $\beta$ -LG > serum albumin, in accordance with the results observed

Table 2. Protein composition (mg/mL of whey) of goat cheese whey from farms and cheese factories

Item	Farm mean (mg/mL)	Cheese factory mean (mg/mL)	SEM
Lactoferrin	0.39 <sup>a</sup>	0.15	0.04
Caprine serum albumin	0.60 <sup>a</sup>	0.39	0.04
$\alpha$ -CN	0.04	0.10	0.01
$\beta$ -CN	ND <sup>1</sup>	ND	—
$\kappa$ -CN	ND	ND	—
$\beta$ -LG	1.99	2.07	0.15
$\alpha$ -LA	1.36	1.27	0.18

<sup>a</sup>In a row, farm value is statistically different from cheese factory value ( $P < 0.05$ ).

<sup>1</sup>ND = not detected.

**Table 3.** Methyl fatty acid composition (%) of goat cheese whey from farms and cheese factories

Item	Farm mean (% of total)	Cheese factory mean (% of total)	SEM
C14:0	14.39	15.40	1.30
C14:1	0.70	0.64	0.03
C15:1	0.38	0.42	0.02
C16:0	40.54	39.90	1.55
C16:1	0.80	0.75	0.05
C16:2	0.89	0.76	0.05
C17:1	0.12	0.17	0.01
C18:0	11.57	11.54	1.37
C18:1	26.00	25.80	1.89
C18:2	2.62	2.45	0.09
C18:3	0.58	0.55	0.03
C20:0	0.23	0.32	0.01
C20:3	0.15	0.11	0.01
C20:4	0.13	0.15	0.01
C22:2	0.22	0.29	0.02
C23:0	0.47	0.51	0.03
C24:0	0.11	0.09	0.01
C24:4	0.10	0.15	0.01

in this study. When heat treatments were 70°C, Law (1995) and Montilla et al. (1995) reported a high thermal stability of  $\alpha$ -LA, in accordance with the results displayed in Table 2.

Table 3 compares the fatty acid percentages in CW produced on farms and in factories. No significant origin-dependent effects were observed. Similar results were reported by Fidler et al. (1998) for pasteurized human milk. The main fatty acids reported in Table 3 were also reported by Bañón et al. (2006) for goat milk, although Soryal et al. (2005) observed seasonal or breed effects with goat milk as well. The proportion of essential linolenic acid, which is particularly susceptible to peroxidation, was not affected by the pasteurization process used in factories. Wardell et al. (1981) determined the fatty acid composition of fresh and pasteurized milk from 8 human mothers, but reported only 7 fatty acids (C14:0, C16:0, C18:0, C16:1n-7, C18:1n-9, C18:2n-6, and C18:3n-3). They also reported a statistically significant (22%) decrease in linolenic acid in milk heated to 62.5°C for 30 min. These results are opposite the results observed in the present study and those reported by Fidler et al. (1998), even though the pasteurization conditions were similar in all 3 studies. Polyunsaturated fatty acids are sensitive to light, oxygen exposure, and temperature, and in milk, they are incorporated into fat globules. If the milk is handled carefully (no centrifugation or homogenization), intact milk fat globule membranes protect the fatty acids. In the present study, CW from cheese factories was derived from milk exposed to increased temperature, but not to light, oxygen, or pressure, likely resulting in preservation of the fatty acid composition of the milk. The comparable fatty acid composition between milk

and CW demonstrates that the cheese-making procedures did not affect fatty acid composition during the transition from milk to CW. However, this lipolysis phenomenon might occur during ripening.

**CONCLUSIONS**

The origin of CW (farms or cheese factories) has important effects on CW composition, including differences in individual proteins. We must be aware of these differences when CW is used in biotechnology or animal nutrition, or for other uses.

**REFERENCES**

Bañón, S., R. Vila, A. Price, E. Ferrandini, and M. D. Garrido. 2006. Effects of goat milk or milk replacer diet on meat quality and fat composition of suckling goat kids. *Meat Sci.* 72:216–221.

Basch, J. J., F. W. Douglas, L. G. Procino, V. H. Holsinger, and H. M. Farrell. 1985. Quantification of caseins and whey proteins of processed milks and whey protein concentrates application of gel electrophoresis, and comparison with Harland-Ashworth procedure. *J. Dairy Sci.* 68:23–31.

Brisson, G., M. Britten, and Y. Pouliot. 2007. Effect of iron saturation on the recovery of lactoferrin in rennet whey coming from heat-treated skim milk. *J. Dairy Sci.* 90:2655–2664.

Bullerman, L. B., and E. C. Berry. 1966. Use of cheese whey for vitamin B<sub>12</sub> production. I. Whey solids and yeast extract levels. *Appl. Microb.* 14:353–355.

Casper, J. L., W. L. Wendorff, and D. L. Thomas. 1998. Seasonal changes in protein composition of whey from commercial manufacture of caprine and ovine specialty cheeses. *J. Dairy Sci.* 81:3117–3122.

Celestino, E. L., M. Iyer, and H. Roginski. 1997. The effect of refrigerated storage of raw milk on the quality of whole milk powder stored for different periods. *Int. Dairy J.* 7:119–127.

Chin, S. F., W. Liu, J. M. Storkson, Y. Ha, and M. W. Pariza. 1992. Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognized class of anticarcinogens. *J. Food Compos. Anal.* 5:185–197.

Fidler, N., T. U. Sauerwald, B. Koletzko, and H. Demmelmair. 1998. Effects of human milk pasteurization and sterilization on available fat content and fatty acid composition. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 27:317–322.

Fox, P. F., and P. L. H. McSweeney. 1998. *Dairy Chemistry and Biochemistry.* Blackie Academic and Professional, London, UK.

Fresno, M., N. Darmanin, J. Capote, and J. M. García. 1992. Characterization of cheese produced by traditional methods in the Canary Islands. *Arch. Zootec.* 41:657–660.

Heino, A., J. Uusi-Rauva, P. Rantamäki, and O. Vainen. 2007. Functional properties of native and cheese whey protein concentrate powders. *Int. J. Dairy Technol.* 60:277–285.

Hiss, S., T. Meyer, and H. Sauerwein. 2008. Lactoferrin concentrations in goat milk throughout lactation. *Small Rumin. Res.* 80:87–90.

Kaur, G., P. S. Panesar, M. B. Bera, and H. Kumar. 2009. Hydrolysis of whey lactose using CTAB-permeabilized yeast cells. *Bioprocess Biosyst. Eng.* 32:63–67.

Kussendrager, K. D. 1994. Effects of heat treatment on structure and iron-binding capacity of bovine lactoferrin. Pages 133–146 in *IDF Bulletin: Indigenous Antimicrobial Agents of Milk: Recent Developments.* Int. Dairy Fed., Brussels, Belgium.

Laemmli, U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227:680–685.

Law, A. J. R. 1995. Heat denaturation of bovine, caprine and ovine whey proteins. *Milchwissenschaft* 50:384–388.

Montilla, A., E. Balcones, A. Olano, and M. M. Calvo. 1995. Influence of heat treatments on whey protein denaturation and rennet

- clotting properties of cow's and goat's milk. *J. Agric. Food Chem.* 43:1908–1911.
- Odrizola-Serrano, I., S. Bendicho-Porta, and O. Martín-Belloso. 2006. Comparative study on shelf life of whole milk processed by high-intensity pulsed electric field or heat treatment. *J. Dairy Sci.* 89:905–911.
- Paulsson, M. A., U. Svensson, A. R. Kishore, and A. S. Naidu. 1993. Thermal behavior of bovine lactoferrin in water and its relation to bacterial interaction and antibacterial activity. *J. Dairy Sci.* 76:3711–3720.
- Regester, G. O., and G. W. Smithers. 1991. Seasonal changes in the  $\beta$ -lactoglobulin,  $\alpha$ -lactalbumin, glycomacropeptide, and casein content of whey protein concentrate. *J. Dairy Sci.* 74:796–802.
- Sanchez, L., J. M. Peiro, H. Castillo, M. D. Perez, J. M. Ena, and M. Calvo. 1992. Kinetic parameters for denaturation of bovine milk lactoferrin. *J. Food Sci.* 57:873–879.
- Sannier, F., S. Bordenave, and J. M. Piot. 2000. Purification of goat  $\beta$ -lactoglobulin from whey by an ultrafiltration membrane enzymic reactor. *J. Dairy Res.* 67:43–51.
- Siso, M. I. G. 1996. The biotechnological utilization of cheese whey: A review. *Bioresour. Technol.* 57:1–11.
- Smithers, G. W. 2008. Whey and whey proteins. From 'gutter-to-gold.' *Int. Dairy J.* 18:695–704.
- Soryal, K., F. A. Beyene, S. Zeng, B. Bah, and K. Tesfai. 2005. Effect of goat breed and milk composition on yield, sensory quality, fatty acid concentration of soft cheese during lactation. *Small Rumin. Res.* 58:275–281.
- Steijns, J. M., and A. C. M. Van Hooijdonk. 2000. Occurrence, structure, biochemical properties, and technological characteristics of lactoferrin. *Br. J. Nutr.* 84(Suppl. 1):S11–S17.
- Varnam, A. H., and J. P. Sutherland. 1994. Milk and milk products. Pages 42–88 in *Technology Chemistry and Microbiology*. Chapman and Hall, London, UK.
- Wardell, J. M., C. M. Hill, and S. W. D'Souza. 1981. Effect of pasteurization and of freezing and thawing human milk on its triglyceride content. *Acta Paediatr. Scand.* 70:467–471.
- Yang, S. T., H. Zhu, Y. Li, and G. Hong. 1994. Continuous propionate production from whey permeate using a novel fibrous bed bioreactor. *Biotechnol. Bioeng.* 43:1124–1130.

**8. CAPÍTULO 2**

**The Complement System of the Goat: haemolytic assays and isolation of major  
proteins**

**The Complement System of the Goat: haemolytic assays and isolation of major proteins**

Isabel Moreno-Indias\*<sup>+</sup>, Alyster W. Dodds.<sup>+</sup>, Anastasio Argüello\*, Noemí Castro\*, Robert B. Sim<sup>+</sup>

\*Animal Science Department, Universidad de las Palmas de Gran Canaria, 35413, Arucas, Las Palmas, Spain.

+MRC Immunochemistry Unit, Department of Biochemistry, University of Oxford, South Parks Road, Oxford OX1 3QU, UK.

Corresponding author: Anastasio Argüello: Tel. +34 928 451094, Fax. +34 928 451142  
aarguello@dpac.ulpgc.es



ABSTRACT

The aim of the present study was to develop a haemolytic assay for the study of the complement system in dairy goats (*Capra aegagrus hircus*) and to investigate the major goat complement system proteins. The commonly used sheep erythrocyte sensitized with rabbit antibodies was not sensitive to lysis by goat serum, but the combination of human red blood cells plus rabbit antibodies was the best option found for goat complement assay. A new buffer was developed using HEPES instead of the classical veronal (barbitone) buffers. Three proteins were isolated: factor H, C1q and C3 and these were compared with the human proteins. The isolation of factor H made use of a novel affinity chromatography method.

Key words: goat, complement system, C3, C1q, Factor H.

### INTRODUCTION

Complement is a central component of the innate immune system which is involved in host defense against infectious agents (Mayilyan *et al.*, 2008). It has three physiological activities: defending against pyogenic bacterial infection, bridging innate and adaptive immunity, and disposing of immune complexes and the products of inflammatory injury (Walport, 2001). The complement system may be activated by three different pathways: the classical, the lectin and the alternative pathway (Rainard, 2003). The classical pathway is activated by binding of the C1q protein to targets, such as Gram negative bacteria, immunoglobulins bound to microorganisms or altered host components such as amyloids or apoptotic cells; the alternative pathway may be directly activated by microorganisms, and also by IgG immune complexes, and the lectin pathway is activated by MBL (mannose-binding lectin) bound to carbohydrates present on the surface of microbes (Seelen, 2005). The lectin pathway of complement can also be activated via L-ficolin (Matsushita *et al.*, 2000), H-ficolin (Matsushita *et al.*, 2002), M-ficolin (Frederiksen *et al.*, 2005) and probably by the recently-described Collectin 11 (Hansen *et al.*, 2010). The complement system in mammals is well characterized, principally in human and mice. Some other vertebrate species have been examined at various levels of detail (e.g. chimpanzee, dog, horse, sheep, guinea-pig, pig, cattle, chicken and some fish), and it is clear their complement systems are very similar (Mayilyan *et al.*, 2008). In these species, the complement system consists of about 35-40 proteins commonly associated with blood plasma and blood cells, but found generally at lower concentration in other compartments of the body (Matheswaran *et al.*, 2003), like lymph, colostrum or milk (Rainard, 2003).

In livestock production, the complement system has been studied principally in cows (Booth *et al.*, 1979, Campbell *et al.*, 1979, Mueller *et al.*, 1983), although there are some

studies in other ruminants, like buffalos (Matheswaran *et al.*, 2003). There are few published research papers on goats.

Some studies on conditions for assaying haemolytic complement of goat sera (Oyekan and Barta, 1980) and in particular of the alternative complement pathway (Venugopal, 1992) have been published. Others published work on goat complement includes studies of infection with some parasites like *Trypanosoma evansi* (Olaho-Mukani *et al.*, 1996) or with the estimation of the molecular size of the C1 complex (Borsos and Rapp, 1965), purification of C1q (Lin *et al.*, 1983) or mapping of MHC-linked complement genes (Cameron *et al.*, 1990). In this study, C2 and C4 were found to be MHC-linked, as in humans.

Recently, Castro *et al.* (2008) demonstrated a relationship between nutrition and complement system activity in goat kids during the first two months of life. More knowledge about the complement system in goats is necessary to understand this relationship in depth.

The aim of the present study was to develop an efficient combination of antibodies and red blood cells to provide a workable haemolytic assay for goat serum/plasma and to isolate the major complement system proteins from goat plasma in order to raise antibodies for future quantitative measurements of concentration. The proteins were C1q, the first protein involved in the classical pathway (Ghai *et al.*, 2007), factor H, because of its importance in the regulation of the alternative pathway (Sim and Discipio, 1982), and C3, the most abundant protein (at least in humans) which forms part of all three pathways (Scott and Fothergill, 1982).

### **2. Materials and methods**

#### *2.1 Plasma/serum*

Blood samples from Majorera goats were obtained at Las Palmas de Gran Canaria University (Animal Science Department). Blood was taken from the jugular vein into a tube with buffered sodium citrate 0.106 M (100 ml of this buffer to 1 L of blood) and centrifuged for 10 minutes at 2130 g and 4°C. Plasma was then frozen at -80°C and transported on dry ice to Oxford University where laboratory determinations were performed. The initial sample was citrated-plasma, so it was converted to serum by adding CaCl<sub>2</sub> to a final concentration of 20 mM, incubating for 20 minutes at 37 °C and centrifuging for 15 minutes at 2500 g.

#### 2.2 Haemolytic assays

##### *2.2.1. Buffers*

Initial haemolytic assays were based on reagents described by Whaley and North (1997). DGVB<sup>++</sup> buffer (Dextrose Gelatin Veronal Buffer, with Ca<sup>++</sup> and Mg<sup>++</sup>:2.5mM sodium barbital, 71mM NaCl, 0.15mM CaCl<sub>2</sub>, 0.5mM MgCl<sub>2</sub>, 2.5%(w/v) glucose, 0.1% (w/v) gelatin, pH 7.4) was used for the classical pathway and DGVB-Mg-EGTA buffer (2.1 mM sodium barbital, 59mM NaCl, 7.0mM MgCl<sub>2</sub>, 2.08%(w/v) glucose, 0.08% (w/v) gelatin, 10mM EGTA, pH 7.4) for the alternative pathway.

In later analyses the DGVB<sup>++</sup> buffer was changed for DGHB<sup>++</sup> buffer in which 5mM HEPES replaced 2.5 mM sodium barbital and the DGVB-Mg-EGTA was changed for DGHB-Mg-EGTA in which 4.2 mM HEPES replaced 2.1 mM sodium barbital

##### *2.2.2. Preparation of antibody-sensitised erythrocytes (EA)*

EA cells were prepared as described by Whaley and North (1997). Sheep erythrocytes (sE) were from sheep blood in Alsevers (TCS Biosciences Ltd., Buckinghamshire, UK) and rabbit antibody was haemolysin (Sigma-Aldrich, Poole, UK). sE and sEA were

prepared as described by Whaley and North (1997). To prepare sheep erythrocytes with goat antibodies, (sEA+GA), goat-anti-rabbit IgG antibodies were added to sEA. sEA (0.5 ml at  $10^9$ /ml) were incubated with 0.5 ml (1:1000) goat anti-rabbit IgG (Sigma-Aldrich, Poole, UK) for 1 hour at RT. After that, two washes in DGVB<sup>++</sup> were done. Human erythrocytes (hE) were prepared from the blood of healthy volunteers, taken with EDTA as anticoagulant and rabbit anti-(human red blood cell membrane) antiserum was from the MRC Immunochemistry Unit. Blood samples were centrifuged (10 min, 2500g) and plasma was removed and stored for later assays. hE were washed in PBS- 0.5 mM EDTA and then 2 times in DGHB<sup>++</sup> until the supernatant was clear. Then the concentration of hE was adjusted to  $10^9$ /ml as for sE. To prepare hEA cells 10 ml of hE cells were incubated with 100  $\mu$ l of rabbit anti-(human red blood cell membrane) antiserum heat-treated for 30 minutes at 56°C. After that, 2 washes in DGHB<sup>++</sup> were done and cell number adjusted to  $10^9$ /ml. Sheep E were also sensitised with human antibodies (anti-Forssman). Two ml of sE at  $10^9$ /ml and 1 ml of human EDTA-plasma were mixed and incubated 30 min at 37°C. Then cells were washed with DGVB<sup>++</sup> and adjusted again to  $10^9$ /ml.

### *2.2.3. Establishing a haemolytic assay for goat serum*

Tests were done with different combinations of erythrocytes and antibodies to see what system was most sensitive to lysis by goat complement. These combinations were: sheep red cells, sheep red cells plus rabbit antibodies (haemolysin, containing IgM and IgG), sheep red cells plus rabbit haemolysin plus goat IgG anti-rabbit IgG (Sigma), human red cells, human red cells plus rabbit antihuman red blood cell membrane (IgM and IgG) and sheep red cells plus human antibodies (IgM and IgG anti-Forssman). In initial tests, 50  $\mu$ l of cells or antibody-sensitized cells at  $10^9$ /ml was incubated with 100

µL of serum or plasma diluted to 1/5 in DGVB<sup>++</sup> for 1 hr at 37 °C before calculation of lysis as described below.

### *2.2.4 Haemolytic titration assay*

A typical classical pathway (CH50) test was done using 100 µl of goat serum serial 2-fold dilutions (starting at 50% serum, serially diluting 10 times) in DGVB<sup>++</sup> mixed with 100 µl of 10<sup>8</sup>/ml EA cells in DGVB<sup>++</sup>. E cells were also used as controls in place of EA. Cells and sera were incubated for 1hr at 37°C, centrifuged (10 min, 2500g) and the OD 405 of the supernatant measured to assess lysis. Percentage complement-dependent lysis was calculated relative to cells lysed in water (100% lysis) and cells incubated with buffer only (0% complement-dependent lysis). Alternative pathway (AP50) assays were done in the same way, but with DGVB-Mg-EGTA as buffer. In later analyses the assay buffers were DGHB<sup>++</sup> or DGHB-Mg-EGTA. To calculate CH50 or AP50 % lysis was plotted against % serum and the serum dilution giving 50% lysis was determined. The CH50 or AP50 was calculated as 100/(%serum causing 50% lysis) x10 and is expressed as units per ml.

### *2.3. Factor H isolation*

For the isolation of factor H a commercial serum (caprine (goat) serum, Sera Lab International Ltd) was used. It was diluted 1:1 with water to reduce ionic strength. For the isolation of the factor H, 200 ml of the goat serum dilution was mixed with 20 ml of TNP-BSA-Sepharose, prepared as indicated by Arnold *et al.* (2005), for one hour in a slow rotary stirrer at 4 °C. The resin was washed exhaustively with HEPES buffer (10mM HEPES, 60 mM NaCl, 0.5 mM EDTA pH 7.4). This affinity column binds mainly Factor H, IgG and IgM (Arnold *et al.*, 2005). Three different solvents were assessed for elution of the bound protein: urea buffer (10mM MES, 6M urea pH 6.0); 2M NaCl; and 6M guanidine-HCl buffer (6M guanidine-HCl, 10 mM Tris, 100mM Na

phosphate pH 8.0-8.2). The resin was placed in a column and washed successively with the three solvents and fractions of 4 ml were collected. Elution was monitored by reading OD 280. Fractions containing protein were dialysed against PBS-0.05 mM EDTA. The best eluants were the 2M NaCl and Guanidine buffer, according to the amount of eluted protein measured at OD280 and analysis by SDS-PAGE. Fractions eluted in these solvents were pooled together and passed through a 1ml Protein G “Hi-Trap” column (GE Healthcare) to remove IgG. The column was washed with PBS-0.05M EDTA and the IgG was eluted with Glycine/HCl buffer (0.2M glycine adjusted to pH 2.2 with HCl). To purify Factor H further gel filtration was used with a Superose 6 10/300 GL column (GE Healthcare), using filtered PBS-5mM EDTA as running buffer. Purification was monitored by SDS-PAGE analysis using human factor H as a standard.

### *2.4. C1q isolation*

The diluted goat serum which had been passed through TNP-BSA-Sepharose was used to prepare C1q. For the isolation of subcomponent C1q, 25 ml of non-immune human IgG-Sepharose prepared as indicated by Sim *et al.* (1993) was added to 200 ml of the diluted goat serum and incubated 1 hour close to 0 °C on a slow rotary stirrer. The IgG-Sepharose was washed rapidly and exhaustively on a sintered glass filter with ice-cold PBS- 5mM EDTA and bound proteins were eluted with ice-cold CAPS buffer (50 mM CAPS, 1M NaCl, 5mM EDTA, pH 11.0 to 11.2). The pH of the eluted fractions was reduced to 7.5 by adding a buffering substance (0.5M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>). The eluted protein (without dialysis) was passed through a Hi-Trap protein G column to remove IgG. The protein solution was then dialysed against 10 mM HEPES 10 mM NaCl pH7.4, and run on a MonoQ 5/5 column (GE Healthcare) equilibrated in the same buffer. C1q does not bind to the column, but contaminants were removed. The run-

through fraction containing C1q was finally dialysed against 230mM Na-acetate pH 5.2 and run on a monoS 5/5 column (GE Healthcare) in the same buffer. C1q was eluted in a linear gradient of NaCl concentration (0-400 mM NaCl in the acetate buffer). Purification was monitored by SDS-PAGE analysis using human C1q as standard.

### *2.5. C3 isolation*

For the isolation of the protein C3, citrated plasma obtained from a male goat of the farm of the Las Palmas de Gran Canaria University was used. C3 was isolated as described for human C3 by Dodds (1993) with minor modifications. Three chromatography steps were necessary: an anion exchange chromatography with a Hi Load 16/10 Q Sepharose FF column (GE Healthcare) with the buffers 20mM HEPES, 50 mM  $\epsilon$ -aminocaproic acid, 5mM EDTA pH 7.4, plus 0.2mM PMSF, and the same buffer plus 1M NaCl; an anion exchange chromatography with a MonoQ HR 5/5 column with the same buffers; and finally, a gel filtration chromatography with a Superose 6 10/300 GL column in PBS-5 mM EDTA. Each step was analyzed with SDS-PAGE (9% (wt/vol) acrylamide).

### *2.6. SDS-PAGE*

SDS-PAGE was done by the method of Laemmli (1970). Sample buffer, sample preparation and staining with Coomassie Blue were as described by Fairbanks et al. 1971. All samples were run under reducing conditions.

Human C3 and human Factor H used as standards in the gels were purified as described in Dodds (1993) and Sim et al. (1993). Human C1q was prepared as described by Tan et al. (2010). The molecular weight standard used was from Sigma.



### **3. Results**

#### **3.1 Haemolytic assay of goat serum**

Figure 1 shows the tests results of goat, human and guinea pig serum/plasma against various red blood cell preparations. Goat plasma and serum showed completely different specificity from human and guinea pig serum. Goat plasma and serum lysed human red cells sensitized with rabbit antibodies, but human and guinea pig serum had no activity against these cells. There was also some lysis of unsensitized human erythrocytes by goat serum and plasma. In contrast, goat serum/plasma did not lyse sheep erythrocytes with any combination of antibodies (even with goat antibodies), while human and guinea pig sera did lyse these cells. Lysis of unsensitized sheep erythrocytes by human serum is due to the presence of anti-Forsman antibodies in the human serum/plasma.

It was necessary to adapt the assay to a more suitable buffer, because of the difficulty in obtaining the drug substance sodium barbital (veronal) in some countries. HEPES was tried instead of barbitone. Figure 2 shows the comparison of the two buffers for an assay of human serum complement with sheep EA. Although both buffers work similarly, the measured titre was slightly higher in HEPES. Further experiences in using both buffers for goat complement showed that both are suitable for assays, but whereas DGVB<sup>++</sup> is a good buffer for long-term storage of red cells, DGHB<sup>++</sup> needs to be removed and changed for another buffer to store the EA cells. A good buffer to store the cells is Alsever's Solution.

In figure 3, the effects on goat complement assay of "classical" versus "alternative" pathway buffers are shown. In DGVB<sup>++</sup> or DGHB<sup>++</sup> all three complement system pathways can be activated, although it would be expected that the classical pathway works at lower serum concentrations than the other pathways. In DGVB-Mg-EGTA or

DGHB-Mg-EGTA only the alternative pathway can work, because both other pathways require  $\text{Ca}^{2+}$  (for the binding of the proteases C1r, C1s or the MASPS, to C1q, MBL or ficolins). Two different sensitising antibody concentrations are shown. When the assay was done with hE cells, goat serum showed a titre of about 5 CH50 units in either buffer. A two-fold higher titre was obtained when the EA cells were sensitised with a low concentration of rabbit anti(human RBC) (about 80-100 CH50 units in either buffer); however at higher antibody concentration a higher titre is observed and in the alternative pathway buffer this titre is much bigger than in the classical pathway buffer (350 CH50 units versus 150 units). In a separate experiment, the concentration of antibody was varied titrating the anti-human RBC, and the maximum titre response was obtained with concentrations higher than 80  $\mu\text{l}$  of antiserum per ml of cells at  $10^9/\text{ml}$  in DGHB++ (not shown).

The fact that the titre in the alternative pathway is higher than in the classical pathway, suggests that the high concentration of antibody present on the cells could activate the alternative pathway. As shown by Gadd and Reid (1981)\* antigen-bound rabbit IgG activates the alternative pathway (in human serum). The antiserum used (rabbit anti-human RBC membrane) was produced with booster injections of antigen over a period of 6 months, so has mainly an IgG response. In figure 4 the CH50 values of various samples of serum from different goats are shown. Those results demonstrated that this assay (using the maximum antibody sensitisation) is able to distinguish between different samples. The fact that the alternative pathway buffer, in all cases, gives higher values than the classical pathway buffer is very interesting, and it must be studied in detail. A possible answer could be that the magnesium ion concentration affects the apparent titre in alternative pathway assays. (Fishelson and Muller-Eberhard, 1987).

In figure 5, SDS-PAGE analysis of factor H (FH) purification is shown. Factor H was identified by its chromatographic behaviour and co-running with human FH on SDS-PAGE, FH forms the major symmetrical peak on the final gel filtration step. As previously observed by Arnold et al (2005), human factor H binds strongly to TNP-derivatised BSA. As shown here, goat factor H also binds to TNP. The binding is of high affinity, and high salt/denaturing buffers are required for elution of the bound protein. Factor H however, is resistant to denaturation, and use of urea/guanidine buffers would not be expected to cause loss of activity.

In figure 6, SDS-PAGE with various fractions of goat C1q from the final mono-S ion exchange is shown. The yield from purification was low, but purity was adequate. Human IgG was used as the affinity ligand, and the result confirms that goat C1q does bind to human IgG, although SRBC sensitised by human IgG/IgM are not lysed by goat serum/plasma (fig 1) The Goat C1q appears similar to human C1q on SDS-PAGE. With C1q from different species, the relative elution positions of the a, b and c chains may differ. In human, a doublet band at ~ 29kDa represents the a and b chains, while a fainter band at ~ 25kDa is the c chain. The c chain aggregates in SDS-PAGE, and may also appear as faint higher bands (50-70 kDa). For goat C1q, there is a fainter band at ~ 29kDa, which may represent the c chain, and a strong band at ~25kDa, likely to represent the a and b chains co-running. C1q is a basic high molecular weight glycoprotein which has two major problems in its purification: a low yield and contaminant immunoglobulins (Rhen and Linder, 1982), and because of the low yield it was necessary to concentrate samples for SDS-PAGE analysis with Strataclean beads (Stratagene).

In figure 7 is shown SDS-PAGE analysis of fractions of the last gel filtration of the purification of C3. The goat C3 is of good purity although it could be contaminated with

C5. C3 and C5 are homologues of the same mol. wt., and in human and rodent, they tend to co-run in chromatographic procedures. (O'Rear and Ross, 2001). The minor band under the C3 alpha chain, marked C3 alpha', may represent either the alpha' chain of C3b, or the alpha chain of C5.

### Discussion

Sheep erythrocytes do not work in the assay of complement in goat samples of the Majorera breed in agreement with the results of Venugopal et al. (1992) who found negligible activity using sheep and cattle erythrocytes, working with goats of unknown breed. This was not observed previously by Olaho-Mukani *et al.* (1996) who used sheep RBC with good results with a different breed of goat in Africa. Oyekan and Barta (1980) showed that the best results for goat complement (breed not stated) were obtained with guinea pig or pig erythrocytes sensitized with goat or cattle antibodies, They also observed lysis with unsensitized rabbit and horse erythrocytes, and low but detectable lysis with sensitized sheep erythrocytes. Noguchi and Bronfenbrenner (1911) did observe that human RBC were usable for testing goat complement. Castro and co-workers (2008) using also Majorera breed goats used for their experiment rabbit erythrocytes without sensitizing.

The resistance to lysis of sheep red blood cells may be because sheep complement regulatory proteins (equivalent to CD59 or DAF) are compatible with goat complement proteins. These types of protein protect host cells from autologous complement attack (Morley and Walport, 2000). These results could be due to a structural similarity between the interaction sites of proteins of both species. For a long time, bovine complement was considered to be nonhemolytic because it was not able to lyse sheep erythrocytes (Rice and Crowson, 1950). However, in Holstein Bull serum Chang-Fa *et*

*al.* (1996) did not find any relationship between phylogenetic proximity of erythrocyte species to cattle and the degree of hemolysis, attributing the fact to the content of the serum of high levels of natural antibodies against RBC of various species: the highest was against guinea pigs and the lowest against cows, sheep, goats and pigs. So in goats it is possible that something similar happens.

In general, as was expected the sensitivity of the assay was improved by sensitization of the erythrocytes with specific antibodies which enhances the activation of the classical pathway (IgG and IgM) and the alternative pathway (IgG). The change of buffer was done because it is difficult to get veronal buffer in some laboratories. Veronal (sodium barbiturate) is the reagent most widely used to measure the activity of the complement system (Oyekan and Barta, 1980; Venugopal *et al.*, 1992; Olaho-Mukani *et al.*, 1996; Seelen *et al.*, 2005; Wouters *et al.*, 2008), but other buffers have been used to measure the activity, for example Castro *et al.* in 2008 used PBS and saline to measure the total complement system activity in kid goat serum although to measure the alternative pathway it was necessary to use the normal EGTA-Mg-gelatin-Veronal buffer. HEPES is a good buffering agent for maintaining physiological pH. The major problem was the storage of red cells in the buffer, which was much poorer than in DGVB<sup>++</sup>. For this reason is better to use another buffer, such as Alsever's solution for storage, to wash the erythrocytes frequently and to minimize as much as possible the storage period in HEPES. The higher values for the titres in the alternative pathway buffer are unexpected. The "classical pathway" buffer allows activation of all three pathways, while the "alternative pathway" buffer allows only the alternative pathway to work.

The expected results would be a lower titre for the alternative pathway as the classical pathway usually dominates the activity of the complement system in the most species, ie classical pathway activity is detectable in more dilute serum than is lectin or

alternative pathway activity (Seelen et al., 2005). The same titre value in the two buffer systems would suggest that the activity of the complement system is due to the alternative pathway, but in our work a higher value was observed in the alternative pathway buffer. These results are consistent with previous results showing that caprine species have potent alternative pathway activation as was suggested by Venugopal *et al.* (1992), a finding supported by Castro *et al.* (2008) and Rodríguez et al. (2009) who, working with goat kids of the same breed as in our study, found that the only pathway used was the alternative. The alternative pathway is continually activated at a low controlled rate but amplified by the surface of invading microorganisms (Tabel, 1996). The environment where the goats live is controlled, ie, nutrition, hygiene or health are supervised by the University staff, and it is thought that microbes that activate the alternative pathway are less pathogenic than those which do not (Saulsbury and Wilkenstein, 1979), so that mutation causing loss of the classical pathway (eg loss of C4) might not be a survival factor for these goats.

The higher titre found in the alternative pathway buffer could be because of the higher concentration of  $Mg^{2+}$ ; Fishelson and Müller-Eberhard (1987), showed that raising the magnesium concentration increased the alternative pathway titre. It would be interesting to probe with different concentrations of  $Mg^{2+}$ , although in other work by Venugopal *et al.* (1992) it is said that higher levels of  $Mg^{2+}$  ions beyond 5 mM had an inhibitory effect on the caprine alternative pathway. Matheswaran *et al.* (2003), working with buffalo colostrum and with concentrations from 4 to 20 mM of  $Mg^{2+}$ , saw no differences, although they chose the concentration of 4 mM as optimum.

The apparent absence of classical pathway could be due to a failure in some component of the classical pathway cascade, possibly C4 deficiency, or perhaps just because some

components are in low concentration, as occurs in bovine milk with C1q (Rainard and Poultré, 2000).

Factor H controls the activity of the alternative pathway C3/C5 convertase by competing with factor B for C3b binding and by serving as a cofactor for factor I to mediate the cleavage of C3b to iC3b (Morley and Walport, 2000). Many procedures have been used to purify factor H. In humans, Sim and Discipio (1982) used five chromatography steps to isolate Factor H: first two steps of polyethyleneglycol (PEG) precipitation were used, continuing with L-Lysine- Sepharose 4B chromatography, DEAE-Sephadex A-50 chromatography, Sepharose 6B gel filtration, Hydroxyl-Apatite-Ultrogel chromatography and finally a DEAE-Sepharose CL-6B chromatography. Nakano et al (1983) used a shorter procedure to isolate rabbit factor H using various steps of precipitation with PEG then three steps of chromatography on DEAE Sephacel; and a further two steps of Sephadex G200 gel filtration. Mhatre and Aston (1988) used a first step of PEG precipitation then three steps of chromatography: DEAE-Sephacel, CM-Sephadex A-50 and Sephadex G-200 to isolate bovine Factor H. More recently, Factor H has been isolated from porcine seminal plasma by using a Q-Sepharose column then a Matrex Gel Red A column, finishing with an FPLC Superdex 200 column (Sakaue, 2010). The method used in the present study seems to be easier and faster and with good results as shown in figure 5. It has three steps: TNP-BSA-Sepharose, protein G Hi-Trap and Superose 6. Binding of human factor H to TNP-BSA had been observed before (Arnold et al, 2005), but this is the first report of use of this ligand for affinity purification.

C1q has a critical function in host defence and clearance of immune complexes, and for this reason it is desirable to study goat C1q in more depth. Lin et al. (1983) used 2 different methods for the purification of goat C1q: in one the procedure was based on

two successive precipitation steps at low ionic strength, and followed with an additional purification through a Sepharose CL-6B gel filtration column; and in the other, they used a two-step chromatography, with a BioRex 70 and a Sepharose CL-6B columns. C1q is a protein which has a high affinity for heparin and for IgG, so McKay (1981) used these characteristics to make a two- step affinity chromatography procedure to purify C1q from various species (human, rat, rabbit, dog and sheep). Pohl et al. (1980) isolated C1q using a three-step purification procedure: precipitation from plasma, affinity chromatography a rabbit IgG-Sepharose column and cleaning up with a rabbit anti-human IgG-Sepharose affinity column. Sasaki et al. (1982) working with guinea pig serum, combined precipitation with chelating agents, CM-cellulose and Sepharose 6B, and in 1984, Stemmer and Loos used a simple and rapid procedure for the purification of C1q from human, guinea pig and mouse serum, with euglobulin precipitation, chromatography on Superose 6B, then Mono S ion exchange.

To establish a simple method to isolate goat complement C1q, previous reports were used as a basis. As several procedures used immobilised IgG, non-immune human IgG-Sepharose was chosen to begin, followed by a Protein G Hi-trap column to remove contaminant human IgG ending with ion exchange chromatography on MonoQ and MonoS to remove all the contaminants. The yield was very low possibly because the concentration of this protein in goats is low, or because human IgG may not be a very high affinity ligand. As noted above, it is possible that C1q is present in low concentration, in that there was very low apparent classical pathway complement activation.

Although little is known about the goat complement genome, only goat C9 and Factor B (properdin) have been sequenced as far we know, a goat genome project is running (<http://locus.jouy.inra.fr/cgi-bin/lgbc/mapping/common/intro2.pl?BASE=goat>) and



probably in the next years the sequences of the complement system proteins will be known, so that we will be able to compare the sequences with humans or other species and learn about the differences in the isolations

Complement C3 may be the most studied protein of the complement system due to its abundance and importance in all three pathways. It has been studied and isolated from many species and usually C3 has been isolated in a similar way with a first step of differential precipitation with PEG, continuing with column chromatography (eg Giclas et al (1981) for rabbit and Gresham et al (1985) for human). Storm et al (1992) isolated porcine C3 with PEG precipitation and DEAE-Sephacel chromatography, ending with a size exclusion chromatography with Sepharose CL-6B and a hydroxylapatite chromatography to remove the contaminants. Basta and Hammer (1991), established a two step protocol to isolate C3: PEG precipitation and fast protein liquid chromatography (FPLC) Mono Q ion exchange chromatography, using human and guinea pig. A procedure used in fishes like the spotted wolfish, in which a PEG precipitation, continued by a MonoQ and a Superose 12 exclusion chromatography was described by Albelseth et al., (2003). Most recent procedures for the isolation of this protein have been based on the work of Dodds (1993) which has been used in this study and consists of PEG precipitation, and 2-3 ion-exchange steps.

There has been no report of C3 isolation from goats, but in other ruminants, C3 has been purified from cows (Menger and Aston, 1985) using a four step protocol: polyethylene glycol precipitation and chromatography on DEAE-Sephadex A-50, CM-Sephadex A-50 and Sephacryl S-200. In camels, the same procedure was followed by Ouma et al. (1998). In the present study the protocol has been simplified to three steps based on a Q Sepharose FF, followed by a MonoQ and a Superose 6.

### Conclusions

The alternative pathway of the goat complement system is the predominant pathway. Human RBC plus rabbit antibodies are the best option for haemolytic assays. HEPES buffer is a good alternative for labs where Veronal buffer is difficult to acquire. The main proteins Factor H, C1q and C3 in goats were isolated and are similar to the human counterparts.

### Conflict of interest statement

The authors declare that they have no competing interests.

### Acknowledgement

This work was supported by grant AGL 2006-08444/GAN from the Spanish Government. Thanks to Oxford University and the staff of the lab of E Sim and RB Sim. Thanks to Dr Anne Jakel for taking human blood samples.

### References

- Abelseth, T.K, Stensva, K., Espelid, S., Nygaard, R., Ellingsen, T., Bøgwald, J., Dalmo, R.A., 2003. The spotted wolffish (*Anarhichas minor* Olafsen) complement component C3: isolation, characterization and tissue distribution. *Fish Shellfish Immunol.* 15, 13–27.
- Arnold, J.N., Wormald, M.R., Suter, D.M., Radcliffe, C.M., Harvey, D.J., Dwek, R.A., Rudd, P.M., Sim, R.B., 2005. Human serum IgM glycosylation: identification of glycoforms that can bind to mannan-binding lectin. *J. Biol. Chem.* 280, 29080-29087.
- Basta, M., Hammer, C.H., 1991. A rapid FPLC method for purification of the third component of human and guinea pig complement. *J. Immunol. Methods* 142, 39-44.
- Booth, N.A.; Campbell, R.D.; Fothergill, J.E., 1979. The Purification and Characterization of Bovine C4, the Fourth Component of Complement. *Biochem. J.* 177, 959-965.

- Borsos, T., Rapp, H.J., 1965 Estimation of molecular size of complement components by sephadex chromatography. *J. Immunol.* 94, 510-513.
- Cameron, P.U., Tabarias, H., Pulendran, B., Robinson, W., Dawkins, R.L., 1990. Conservation of the central MHC g Anome: PFGE mapping and RFLP analysis of complement, HSP70, and TNF genes in the goat. *Immunogenetics* 31, 253-264.
- Campbell, R.D., Booth, N.A., Fothergill, J.E., 1979. Purification and Characterization of Subcomponent C1q of the first Component of Bovine Complement. *Biochem. J.* 177, 531-540.
- Castro, N., Acosta, F., Niño, T., Vivas, J., Quesada, E., Capote, J., Argüello, A., 2008. The effects of diet and age on serum complement system activity in goat kids. *Lives. Sci.* 119, 102-109.
- Chang-Fa, W., Yun-Dong, G., Hong-Mei, W., Shao-Hua, Y., Yan, Z., Jian-Bin, L., Ming-Hai, H., Ji-Feng, Z., 2006. Characterization of alternative complement hemolytic pathway activity in Holstein bull serum. *Acta Zoologica Sinica* 52, 698-705.
- Dodds, A.W., 1993. Small-scale preparation of complement components C3 and C4. *Methods Enzymol.* 223, 46-61.
- Fairbanks, G., Steck, T.L. Wallach, D.F., 1971. Electrophoretic analysis of the major polypeptides of the human erythrocyte membrane. *Biochemistry* 10, 2606-2617.
- Fishelson, Z., Müller-Eberhard, H.J., 1987. C3 convertase of the human alternative pathway of complement: modulation of enzyme activity and stability by mouse monoclonal antibodies to Bb. *Eur. J. Immunol.* 17, 303-304.
- Frederiksen, P.D., Thiel, S., Larsen, C.B., Jensenius, J.C., 2005. M-ficolin, an innate immune defence molecule, binds patterns of acetyl groups and activates complement. *Scand. J. Immunol.* 62, 462-73.

Gadd, K.J., Reid K.B., 1981. Importance of the integrity of the inter-heavy-chain disulphide bond of rabbit IgG in the activation of the alternative pathway of human complement by the F(ab')<sub>2</sub> region of rabbit IgG antibody in immune aggregates. *Immunology*. 42, 75-82.

Ghai, R., Waters, P., Roumenina, L.T., Gadjeva, M., Kojouharova, M.S., Reid, K.B., Sim, R.B., Kishore, U., 2007. C1q and its growing family. *Immunobiology*. 212, 253-266.

Giclas, P.C., Keeling, P.J., Henson, P.M., 1981. Isolation and characterization of the third and fifth components of rabbit complement. *Mol. Immuno*. 18, 113-123.

Gresham, H.D., Matthews, D.F., Griffin, F.M., 1986. Isolation of human complement component C3 from small volumes of plasma. *Anal. Biochem*. 154, 454-459.

Hansen, S., Selman, L., Palaniyar, N., Ziegler, K., Brandt, J., Kliem, A., Jonasson, M., Skjoedt, M.O., Nielsen, O., Hartshorn, K., Jørgensen, T.J., Skjødt, K., Holmskov, U., 2010. Collectin 11 (CL-11, CL-K1) is a MASP-1/3-associated plasma collectin with microbial-binding activity. *J. Immunol*. 185, 6096-104.

<http://locus.jouy.inra.fr/cgi-bin/lgbc/mapping/common/intro2.pl?BASE=goat>. Mapping the Caprine Genome, Institut National de la Recherche Agronomique.

Laemmli, U.K., 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 15, 680-685.

Lin, T.M., Halbert, S.P., Cort, R., Blaschke, J., 1983. An Enzyme-Linked Immunoassay for Circulating Immune Complexes Using Solid Phase Goat C1q. *J. Immunol. Methods*. 63, 187-205.

Matheswaran, K., Raj, G.D., Nachimuthu, K., 2003. Demonstration of Alternative and Classical Complement Pathway Activity in Colostrum from Buffalo (*Bubalus bubalis*). *Vet. Res. Commun*. 27, 445-452.

Matsushita, M., Endo, Y., Fujita, T., 2000. Cutting edge: complement-activating complex of ficolin and mannose-binding lectin-associated serine protease. *J. Immunol.* 164, 2281-2284.

Matsushita, M., Kuraya, M., Hamasaki, N., Tsujimura, M., Shiraki, H., Fujita, T., 2002. Activation of the lectin complement pathway by H-ficolin (Hakata antigen). *J. Immunol.* 168, 3502-3506.

Mayilyan, K.R., Kang, Y.H., Dodds, A.W., Sim, R.B., 2008. The Complement System in Innate Immunity. In: *Innate immunity of Plants, Animals and Humans. Nucleic Acids and Molecular Biology* 21, 219-236.

McKay, E.J., 1981. A simple two-step procedure for the purification of plasma C1q from different animal species. *Immunol. Lett.* 3, 303-308.

Menger, M., Aston, W.P., 1985. Isolation and characterization of the third component of bovine complement. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 10, 317-331.

Mhatre, A., Aston, W.P., 1988. Isolation of bovine complement factor H. *Vet Immunol Immunopathol.* 14, 357-375.

Morley, B.J., Walport, M.J., 2000. *The Complement Facstbook.* Factsbook series. Academic Press. Great Britain.

Mueller, R., Carroll, E.J., Panico, L., 1983. Hemolytic complement titers and complement C3 levels in endotoxin-induced mastitis. *Am. J. Vet. Res.* 44, 1442-1445.

Nakano, Y., Tobe, T., Matsuda, T., Sakamoto, T., Tomita, M., 1984. Isolation and Characterization of Rabbit Factor? H of the Alternative Complement Pathway. *J. Biochem.* 95, 1469-1475.

Noguchi, H., Bromfenbrenner, J., 1911. The comparative merits of various complements and amboceptors in the serum diagnosis of syphilis. *J. Exp. Med.* 13, 78-91.

Olaho-Mukani, W., Munyua, W.K., Njogu, A.R., 1996. Haemolytic complement and class-specific antibody levels in goats during infection with *Trypanosoma evansi* and after treatment with diminazene aceturate. *Small. Rum. Res.* 22., 241-247.

O'Rear, L.D., Ross, G.D., 2001. Isolation and purification of C3 from human plasma. *Currents Protocols in Immunology*. Chapter 13, Unit 13.3.

Ouma JO, Olaho-Mukani W, Mutani A, Wishitemi B.E.L, Guya SO: Dromedary complement (C3): Purification, characterisation and quantitation of its levels during experimental *Trypanosoma evansi* infection in camels. *J. Camel Prac. Res.*, 5:213-218.

Oyekan, P.P., Barta, O., 1980. Hemolytic assay for goat (caprine) and swine (porcine) complement. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1, 317-328.

Pohl, D.A., Gibbons, J.J., Tsai, C.T., Roodman, S.T., 1980. Isolation and purification of human C1q from plasma. *J. Immunol. Methods* 36, 13-27.

Rainard, P., Poultrél, B., 2000. Generation of complement fragment C5a in milk is variable among cows. *J. Dairy Sci.* 83, 945-951.

Rainard, P., 2003. The complement in milk and defense of the bovine mammary gland against infections. *Vet. Res.* 34, 647-670.

Rhen, M., Linder, E., 1982. Three step purification of C1q by DNA precipitation, ion exchange and lectin affinity chromatography. *J. Clinl. Pathol.* 35, 1114-1117.

Rice, C.E., Crowson, C.N., 1950. The interchangeability of the complement components of different animal species in the hemolysis of sheep erythrocytes sensitized with rabbit amboceptor. *J. Immunol.* 65, 201-210.

Rodríguez, C., Castro, N., Capote, J., Morales-Delanuez, A., Moreno-Indias, I., Sánchez-Macías, D., Argüello, A., 2009. Effect of colostrum immunoglobulin concentration on immunity in Majorera goat kids. *J. Dairy Sci.* 92, 1696-701.

Sakaue, T., Takeuchi, K., Maeda, T., Yamamoto, Y., Nishi, K., Ohkubo, I., 2010. Factor H in Porcine Seminal Plasma Protects Sperm against Complement Attack in Genital Tracts. *J. Biol. Chem.* 285, 2184–2192.

Sasaki, T., Ueda, M., Yonemasu, K., 1982. The subcomponent C1q of the first component of guinea pig complement: Purification and characterization. *J. Immunol. Methods* 48, 121-131.

Saulsbury, F.T., Winkelstein, J.A., 1979. Activation of the alternative complement pathway by L-phase variants of gram-positive bacteria. *Infect. Immun.* 23, 711-716.

Scott, J.D., Fothergill, J.E., 1982. A general method for affinity purification of complement component C3b using factor H-Sepharose. *Biochem. J.* 205, 575-580.

Seelen, M. A., Roos, A., Wieslander, J., Mollnes, T.E., Sjöholm, A.G., Würzner, R., Loos, M., Tedesco, F., Sim, R.B., Garred, P., Alexopoulos, E., Turner, M.W., Daha, M. R., 2005. Functional analysis of the classical, alternative, and MBL pathways of the complement system: standardization and validation of a simple ELISA. *J. Immunol. Methods* 296, 187-198.

Sim, R.B., Discipio, R.G., 1982. Purification and structural studies on the complement-system control protein  $\beta_1$ H (Factor H). *Biochem. J.* 205, 285-293.

Sim, R.B., Day, A.J., Moffatt, B.E., Fontaine, M., 1993. Complement factor I and cofactors in control of complement system convertase enzymes. *Methods Enzymol.* 223, 13-35.

Stemmer, F., Loos, M., 1984. Purification and characterization of human, guinea pig and mouse C1q by fast protein liquid chromatography (FPLC). *J. Immunol. Methods* 71, 9-16.

Storm KE, Arturson G, Nilsson UR., 1992. Purification and characterization of porcine C3. Studies of the biologically active protein and its split products. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 34, 47-61.

Tabel, H., 1996. Alternative pathway of complement in ruminants: role in infection. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 54, 117-121.

Tan, L.A., Yu, B., Sim, F.C., Kishore, U., Sim, R.B., 2010. Complement activation by phospholipids: the interplay of factor H and C1q. *Protein. Cell* 1, 1033-49.

Venugopal, G., Ram, G.C., Bansal, M.P., 1992. Determination of optimal in vitro conditions for caprine alternative complement pathway assay. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 32, 359-364.

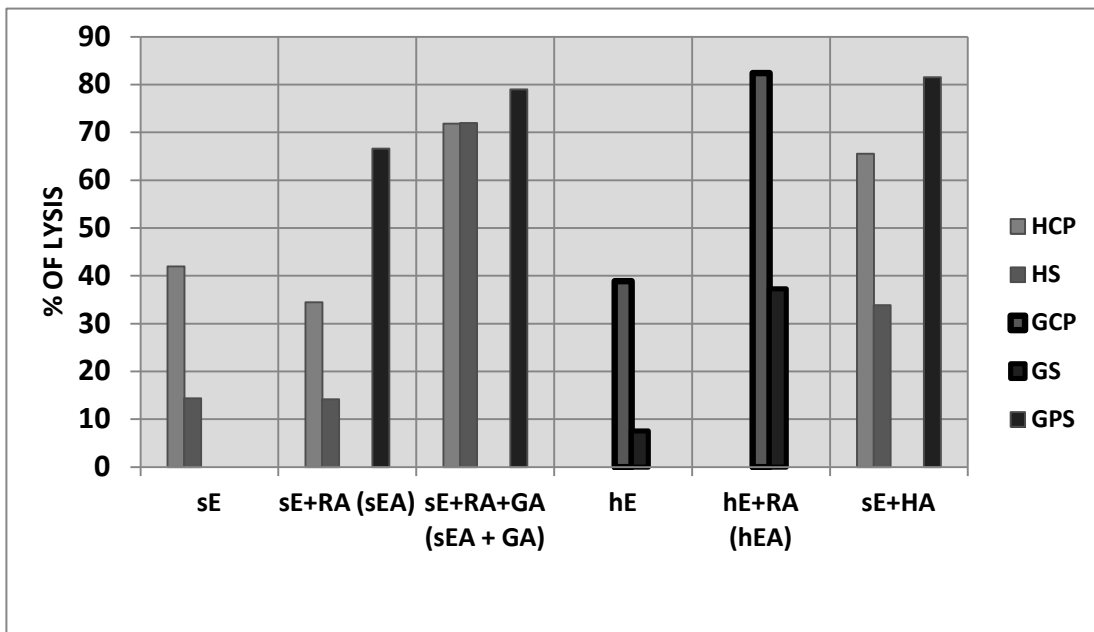
Walport, M.J., 2001. Complement: first of two parts. *N Engl J Med*, 344, 1058-1066.

Whaley, K., North, J., 1997. Haemolytic assays for whole complement activity and individual components” in “Complement: a Practical Approach. Ed. Dodds, A.W., Sim, R.B., chapter 2, 19-47. IRL Press. Oxford, UK.

Wouters, D., Brouwer, M.C., Daha, M.R., Hack, C.E., 2008. Studies on the haemolytic activity of circulating C1q-C3/C4 complexes. *Mol. Immunol.* 45, 1893-1899.

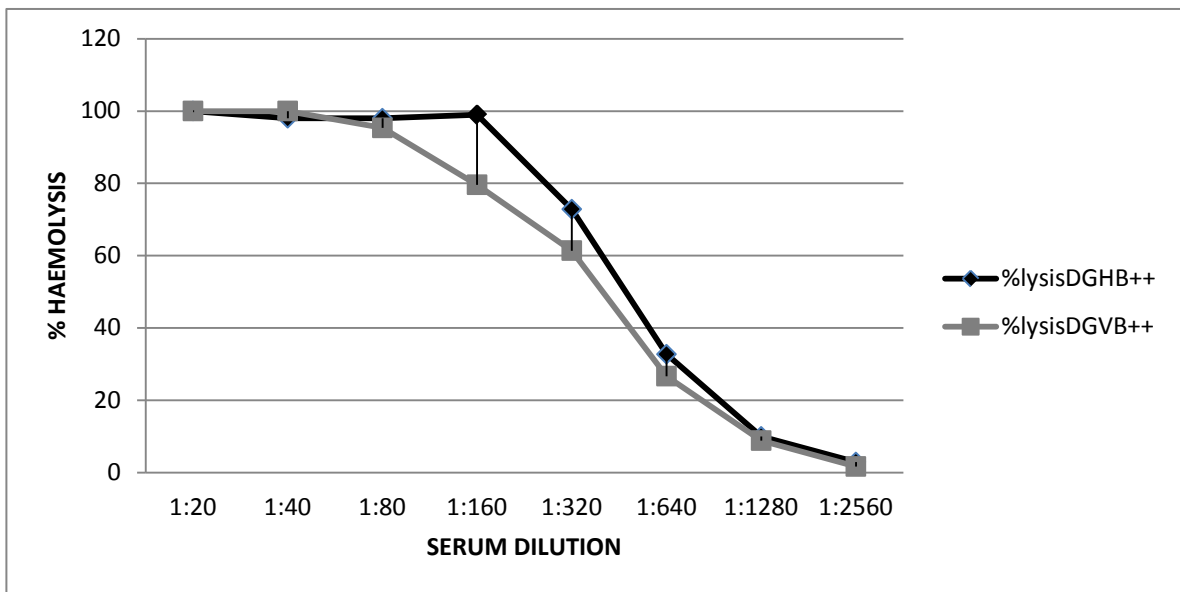


Figure 1. Lysis of different cells, with and without antibody by human, goat and guinea-pig plasma/serum (HCP and HS, GCP and GS, and GPS respectively).



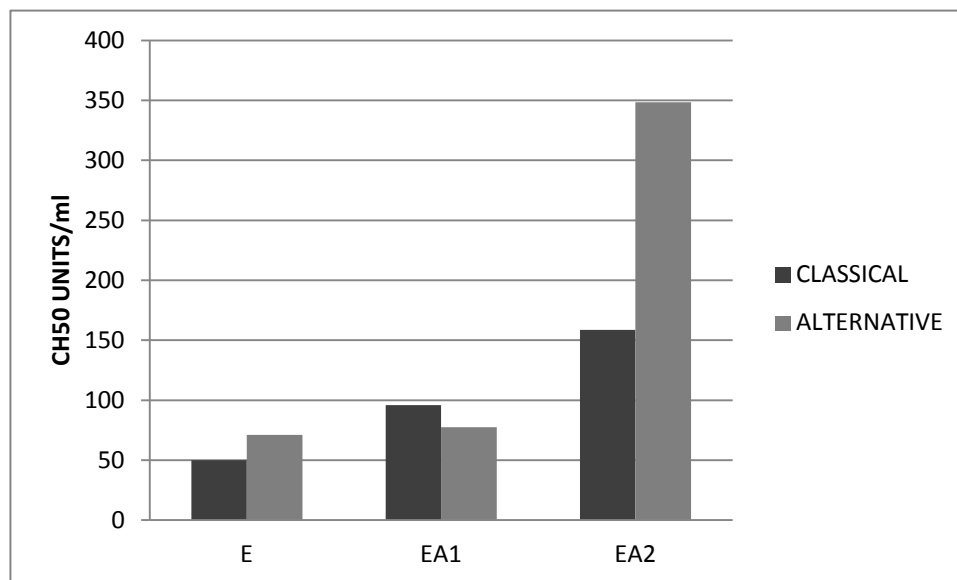
Sheep (sE) and human (hE) erythrocytes were pre-coated or not with rabbit or rabbit+goat antibodies. Erythrocytes (50  $\mu$ l of  $10^9$ /ml) in DGVB<sup>++</sup> were incubated with 100  $\mu$ l of 1/5 dilution of plasma/serum for 1 hour at 37°C and the % lysis of cells calculated as in methods section. sE, hE: sheep and human erythrocytes without pre-coated; sEA, hEA= sheep and human pre-coated with rabbit antibodies; RA, GA, HA= rabbit, goat and human antibodies respectively.

Figure 2. Comparison of HEPES (DGHB<sup>\*\*</sup>) and Veronal (DGVB<sup>++</sup>) buffers.



Serial 2-fold dilutions of human serum were made in either buffer, starting at 1/20 (5%). Dilutions (100  $\mu$ l) were mixed with 100  $\mu$ l of  $10^8$ /ml sheep EA cells, in the same buffer, and incubated 1 hour, 37°C. Percentage lysis was calculated as in methods.

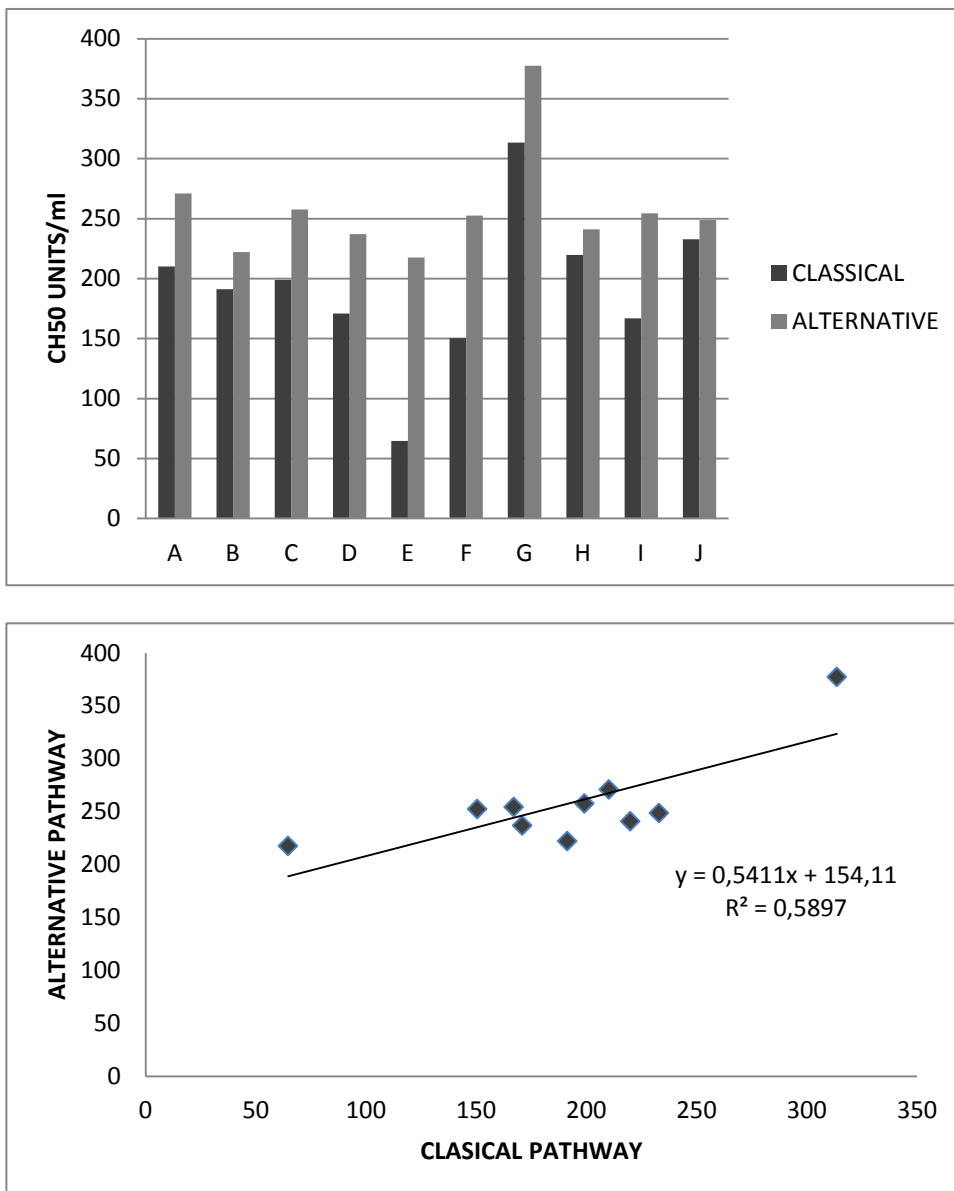
Figure 3. Titration of sensitising antibody and effects of “classical pathway” versus “alternative pathway” conditions



Human red cells (E) were used without sensitization or sensitised with 10  $\mu$ l anti(human RBC) antiserum per ml of  $10^9$  cells/ml (EA1) or with 100  $\mu$ l antiserum per ml of  $10^9$  cells/ml (EA2).

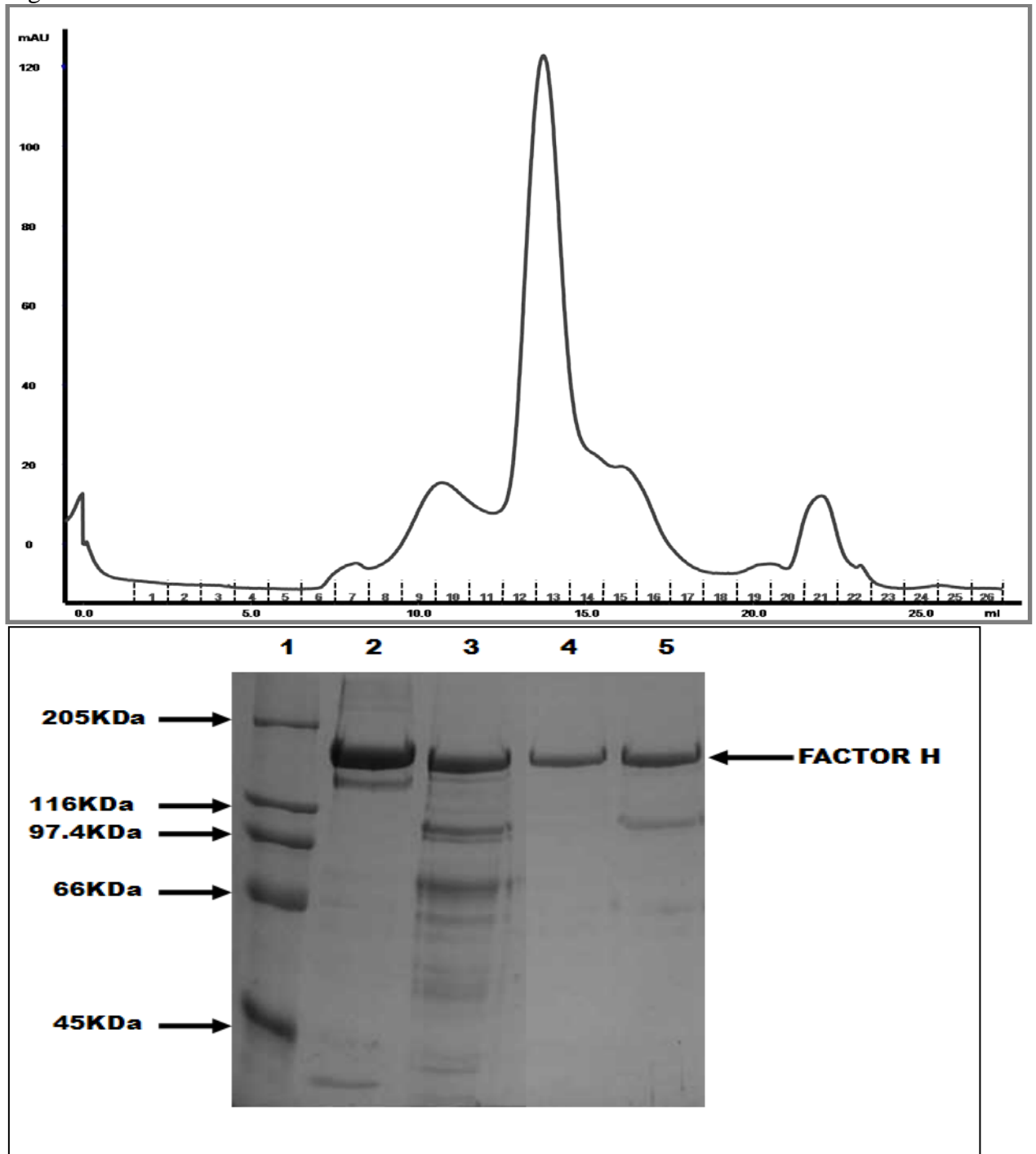
Two-fold serial dilutions of goat serum were made in either DGHB\*\* or DGHB-Mg-EGTA, starting at 1:1 (50%). Dilutions (100  $\mu$ l) were incubated with E, EA1 or EA2 cells (100  $\mu$ l of  $10^8$ /ml) in the same buffer for 1 hour 37°C. Percentage lysis was calculated, and the serum concentration (% serum) required for 50% lysis calculated. CH<sub>50</sub> (the number of complement lysis units in 100% serum).

.Figure 4. Comparison of multiple samples.



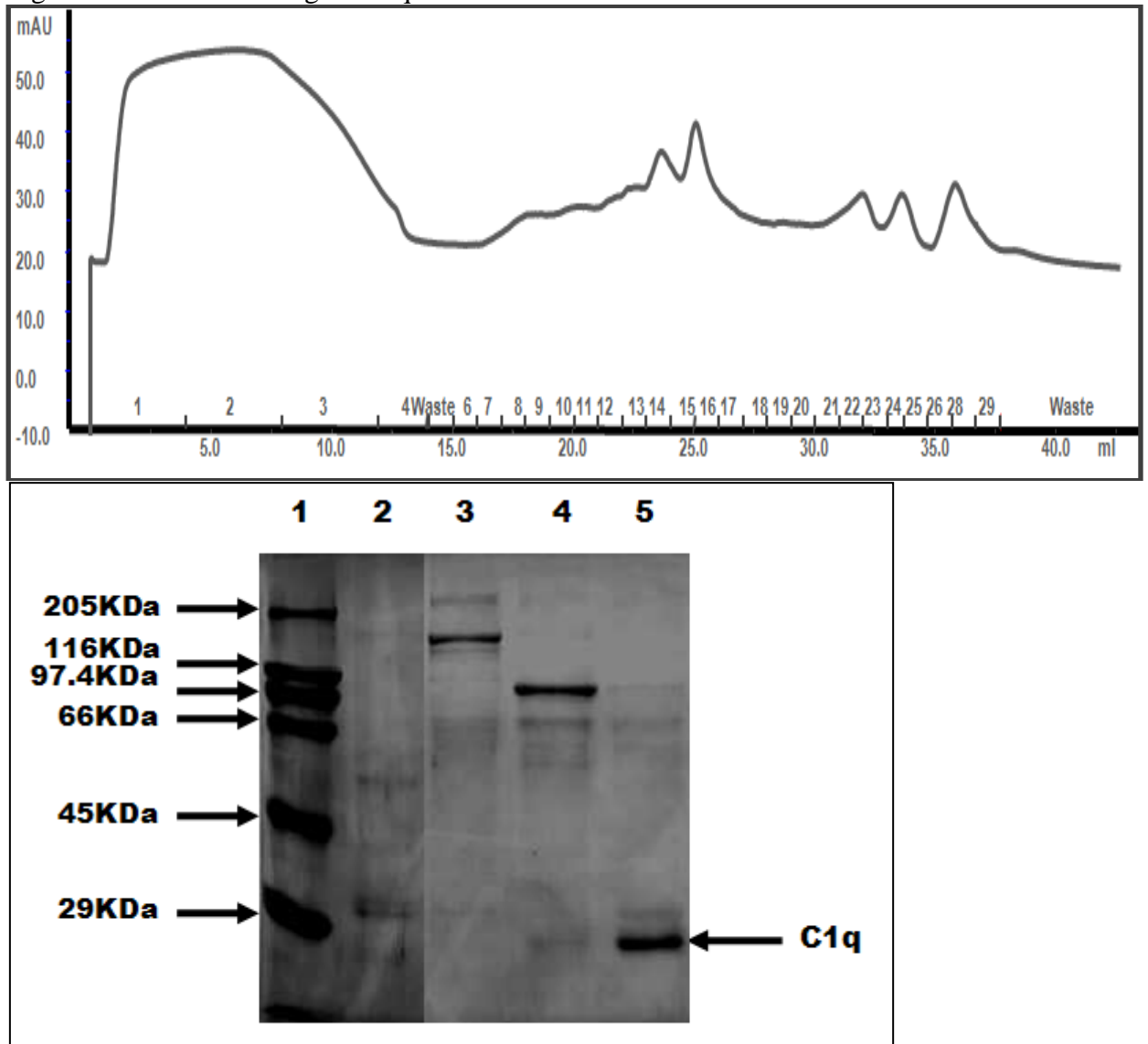
Ten goat serum samples were assayed (as described in the legend for fig. 3) using DGHB<sup>++</sup> and DGHB-Mg-EGTA buffers, and highly sensitised EA (equivalent to EA2 in fig. 3). The titre of each sample CH50 units in the assay is shown for both buffer conditions.

Figure 5. Isolation of Goat Factor H.



- a) Gel filtration of goat FH on Superose 6.
- b) SDS-PAGE analysis of reduced goat FH fractions. lane 1: Molecular weight standard, lane 2: human Factor H, lane 3: Factor H before the gel filtration, lane 4: fraction 12 from the gel filtration, lane 5: fraction 13 from the gel filtration.
- Gel was stained with Coomassie blue.

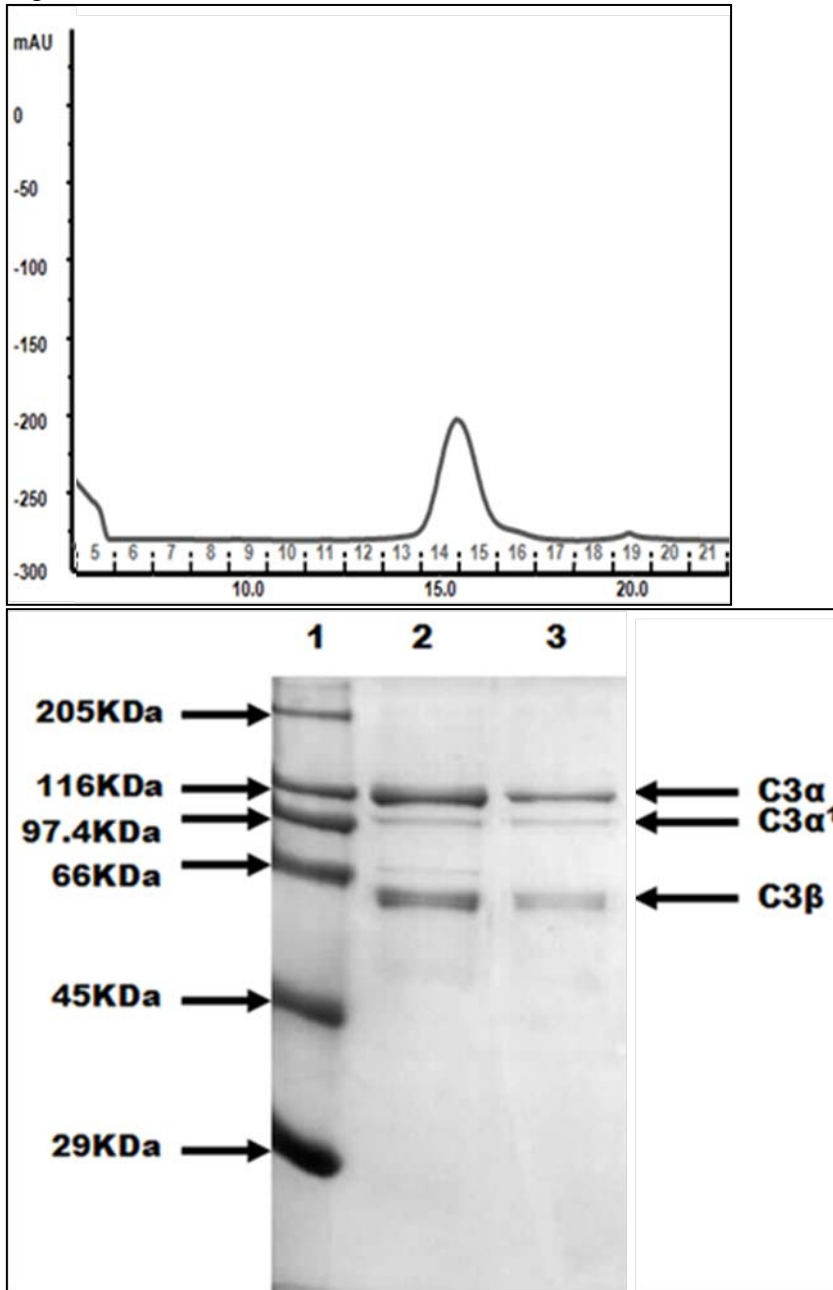
Figure 6. Purification of goat C1q.



a) Ion Exchange (monoS) chromatogram of C1q.

b) SDS-PAGE analysis of reduced goat C1q fractions. Lane 1: Molecular weight standard, lane 2: human C1q, (with a contaminant ~50kDa) lane 3: fraction 16 from the ion exchange, lane 4: fraction 22, lane 5: fraction 24. Fractions were concentrated with Strataclean beads. Gel was stained with Coomassie blue.

Figure 7. Isolation of C3.



- a) Gel filtration of goat C3 on Superose 6.
- b) SDS-PAGE of the final step gel filtration on Superose 6. Lane 1: Molecular weight standard, lane 2 and 3 : fractions of the gel filtration (14, 15). Fractions were concentrated with Strataclean beads. Gel was stained with Coomassie blue.

**9. CAPÍTULO 3**

**Effects of micro-seaweed DHA Supplementation on Growth, Carcass and Meat Qualities, Fatty Acid Composition and Immune Status of Goat Kids.**



**Goat Kids and DHA Addition**

**Effects of micro-seaweed DHA Supplementation on Growth, Carcass and Meat Qualities, Fatty Acid Composition and Immune Status of Goat Kids.**

I. Moreno-Indias, L. Hernández-Castellano, A. Morales-delaNuez, D. Sánchez-Macías, M.D. Ruíz-Díaz, N. Castro and A. Argüello.

Universidad de las Palmas de Gran Canaria, Arucas, Spain, 35413.

Corresponding autor: Anastasio Argüello. E-mail: [aarguello@dpat.ulpgc.es](mailto:aarguello@dpat.ulpgc.es)

**Running head**

**DHA effects on immune system and meat quality**

**ABSTRACT**

The generation of a variety of food products with enhanced n-3 fatty acid contents based on the fact that the fatty acid composition of the diet is an important determinant of the fatty acid composition of the muscles and adipose tissue in preruminant animals have increased in last years to produce meat which meets the dietary recommendations of many organizations. Algal oils have been presented as a better source than fish oil. Despite the evidences relatives to the improvement in the fatty acids compositions, previous reports are not consistent with respect to other parameters such as growth, carcass and meat quality, as with respect to the immune status which even though scientific literature contains examples of potential benefits of these marine oils, is difficult to determine whether is actually beneficial. An experiment was performed based on the feeding of three different groups of animals with different doses of a DHA source: control group (MR), low dose (MR-LD-DHA) and high dose (MR\_HD-DHA). Parameters of growth, carcass and meat quality, and fatty acid composition of intramuscular, perirenal, pelvic, subcutaneous and intermuscular fats were measured. Immune status of the kids was evaluated with the concentration of plasma IgG and IgM, and ChT and complement system activity. Main differences were found with respect to the fatty acids compositions ( $P < 0.05$ ) showing an influence of the dose and suggesting that the extra cost of this DHA addition is justified only to improve the fatty acid composition of the goat kids.

**Key words:** DHA, fatty acid, immune status, goat kid

### **Implications**

According to the guides established by the World Health Organizations, the consume of omega-3 fatty acids should be increased. For that reason, much effort has been focused on increasing the amount of these fatty acids in the meat. Studies about the quality of these meats and especially about the implications on the animal health are necessities.

### **INTRODUCTION**

The fact that the fatty acid composition of the diet is an important determinant of the fatty acid composition of the muscles and adipose tissue in monogastric species is applicable also to preruminant animals (Yeom et al, 2002), although despite ruminal hydrogenation, several studies have shown that medium or long-term supplementation with lipid sources rich in n-3 fatty acids modify the meat fatty acid profile, improving the nutritional quality of meat (Raes et al., 2004). So that increased interest in enhancing the nutritional quality of meat foods has stimulated research on manipulation of their fatty acid profiles through nutritional strategies. The goal is to produce meat which meets the dietary recommendations for a reduced intake of fat and cholesterol in the human diet and an optimal ratio of saturated (SFA), monounsaturated (MUFA) and polyunsaturated (PUFA) fatty acids (EFSA, 2010).

Nowadays, goat meat is considered to be a high quality foodstuff, particularly because of its low level of fats deposits and their composition (Banskalieva et al., 2000). Especially the meat of suckling goat kids (fed solely with goat milk or milk replacer) is highly valued in Spain, so the kids are usually separated from their mothers, and fed with milk replacer for slaughter at less than 8 kg. With the aim of producing meat that are particularly rich in n-3 PUFA, different types of fat have been introduced into de diet provided to goats (Navarro et al., 2008), although only few studies have been undertaken to find the time required for the incorporation of significant amounts of n-3

PUFA into animal products, but these studies showed that short-term diet manipulation is necessary (Kouba and Mourot, 2011), in the same way that there is not a defined amount of n-3 PUFA for an enough incorporation into the meat.

Recent advances in the area of functional foods and nutraceutical have resulted in the generation of a variety of food products with enhanced n-3 fatty acid contents. This technology primarily utilizes the incorporation of either marine sources or flaxseed products into livestock feed, resulting in accumulation of these fatty acids in tissues and other animal products. Other technologies include the manipulation of genetic make up of higher plants and animals to create transgenic creatures with enhanced abilities for synthesizing n-3 fatty acids (Moghadasian, 2008).

Among “essential” fatty acids, those commonly saw in fish oil and other sea food products seen to have a crucial role in normal body function and certain pathological conditions. At least two dietary fatty acids, namely eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA), have been recognized to be critical for optimal multiple-system function (Moghadasian, 2008).

On the other hand, diets that were supplemented with long chain n-3 PUFA have improved the health and performance of neonatal and growing animals, although responses to n-3 PUFA supplementation have not always been consistent (Lewis et al., 2008). Even though scientific literature contains numerous examples of potential benefits of marine sources treatment on neonatal health and performance, the lack of consistency in results makes it difficult to determine whether marine sources supplementation is actually beneficial.

The aim of the present study was to observe the effect of dietary addition of a source of DHA in carcass and meat quality and immune system of goat kids.

## **MATERIAL AND METHODS**

### **Animals**

The present work was conducted in the experimental farm of the Veterinarian Faculty of Universidad de las Pamas de Gran Canaria (Spain). 30 Majorera goat kids (males and females) were randomly assigned to three groups. At birth, the kids were separated from their mothers and dried. Their umbilical cords were disinfected. Then they were weighed and assigned to one of the three experimental groups. Kids were bottle-fed colostrums from a pool preparing prepartum, according to the kid management protocol described by Argüello et al. (2004). Then, since the fourth fed, kids received their correspondent diets: group one (MR) was fed with a commercial milk replacer (Bacilactol Cabritos, Saprogal, La Coruna, Spain; 95.5% DM, 23.6% CP, and 22.7% ether extract) at 16 % (w/w); group two (MR-DHA-LD) received a commercial milk replacer supplemented with 9 g of an exogenous source of DHA (DHA-gold©, Martek Biosciences, USA) with a final concentration of 16% (w/w) and group three (MR-DHA-HD) fed with a mix of the commercial milk replacer and a high dose (18 g) of the DHA, representing 1.8% (w/w) maintaining the final concentration of 16% (w/w). Animals were fed with corresponding diet until they reach 8 kg BW where they were slaughtered according with welfare practices.

### **Carcass**

Hot carcass weight (HCW), chilled carcass weight (CCW) and offal weights were recorded after slaughter. Net Weight at Slaughter (NWS) was calculated as (LWS-gut content). Muscle pH was determined using a Crisson 507 pH meter with a combined electrode, by insertion into the *longissimus* (at the 12/13<sup>th</sup> rib site) immediately after slaughter and after chilling (24h). Muscle color was measured at the same sites and

times using a Minolta CR200 Chroma meter (where L\* depicts relative lightness, a\* indicates relative redness and b\* represents relative yellowness).

According to Argüello et al. (2007) next indexes were calculated: Commercial carcass yield (CCY) was calculated as  $(CCW/LWS) \times 100$  and Net Carcass Yield (NCY) as  $(HCW/NWS) \times 100$ . Measurements of width between hips (G), carcass length (L), leg length (F) and hips perimeter (B) were measured. Carcass compactness index was calculated as  $(CCW/L)$  and long leg compact index as  $(G/F)$  or  $(B/F)$ .

After chilling, the carcasses were split down. The left and right sides were divided into five primal cuts (neck, flank, ribs, shoulder and long leg) and two minor cuts (kidney and tail) as described by Argüello et al. (2007). Each piece was weighed, vacuum packed and stored at -18°C until analysis. In order to calculate the tissue composition, left shoulders (Argüello et al., 2001) were defrosted during 24 h at 4°C, after weighing, shoulders were separated into dissectible muscle, bone, offal and fat, with the subcutaneous and intermuscular fat depots being recorded separately. Fat depots were processed for fatty acid analyses after that.

#### **Meat**

Using *Longissimus* muscle moisture, fat, protein and ash, as well as total collagen content and solubility were determined according to Argüello et al. (2005). *Semimembranosus* muscles were used to measure thawing losses (weight frozen – weight thawed) and water holding capacity (WHC) according to Argüello et al. (2005). *Semimembranosus* were cooked in plastic bags in a water bath at 70°C during 30 min; cooking losses were measured and expressed as the percentage loss related to the initial weight after that, tenderness were measure using a Warner-Bratzler shear force apparatus on an INSTRON Machine according Argüello et al. (2005).

#### **Fat depots**

Fatty acid profile according with Granados (2000) was performed in subcutaneous and intermuscular depot (from shoulder), pelvic and renal depot (from leg) and intramuscular depot (from *Semimembranous* muscle).

#### **Immune status**

Blood samples were collected from the jugular vein diary from birth until day 10 of life, and after that, every 5 days until goat kids reached 8 Kg of BW. Blood samples were collected in two different tubes: heparinized for plasma samples and a crystal tube to get serum. After collection blood samples were centrifuged (2136 g, 5 min, 4°C) and after that separated plasma and serum were frozen at -20°C in aliquots.

Plasma immunoglobulin levels were assayed using the reagents of goat IgG and IgM ELISA kits (Bethil Laboratories, Montgomery, TX, USA) and plasma chitotriosidase (ChT) levels were measured according to described by Argüello et al. (2008).

Serum complement system activity was measured according next protocol: DGHB<sup>++</sup> buffer (Hepes Gelatin Veronal Buffer, with Ca<sup>++</sup> and Mg<sup>++</sup>:5mM HEPES, 71mM NaCl, 0.15mM CaCl<sub>2</sub>, 0.5mM Mg Cl<sub>2</sub>, 2.5%(w/v) glucose, 0.1% (w/v) gelatin, pH 7.4) was used to measure total complement system activity and DGHB-Mg-EGTA buffer (4.2 mM Hepes, 59mM NaCl, 7.0mM Mg Cl<sub>2</sub>, 2.08%(w/v) glucose, 0.08% (w/v) gelatin, 10mM EGTA, pH 7.4) for the alternative pathway. Rabbit Red Blood Cells (RRBC) diluted at 5% in the correspondent buffer, were added (100 µL) to the serum of a kid (previously diluted in the correspondent buffer at 5%, 100 µL) in a microtiter plate (well) and the mixture was incubated at 37°C or 1h. Next, cells were removed by centrifugation (2500 g, 5 min), and the absorbance of the supernatant was measured at

405 nm using a microplate reader. Complete hemolysis was achieved by mixing the cells with distilled water (100 µL), and spontaneous lysis was produced by mixing the diluted RRBC with the correspondent buffer. Complement-induced hemolysis of RRBC by the test sera was defined as follow:  $(A_{405} \text{ sample} - A_{405} \text{ spontaneous lysis}) / (A_{405} \text{ 100\% hemolysis} - A_{405} \text{ spontaneous lysis}) * 100$ .

#### **Statistical analysis**

The SAS (Version 9.00, SAS Institute Inc., Cary, NC) program package was used for statistical analysis. A one-way ANOVA was performed to evaluate carcass and meat measurements; and a PROC MIXED procedure factorial ANOVA (analysis of variance with repeated measures) was performed to evaluate the effects of the treatments on growth, plasma IgG and IgM concentrations, chitotriosidase activity and complement system activity (total and alternative).

#### **RESULTS**

The inclusion of seaweed DHA source to commercial milk replacer did not affect the ADG (Table 1). Carcass quality characteristics are shown in Table 1. No significant differences were found for LWS, HCW, CCW, NWS, NCY, CCY and Chilling losses. Within the offal no differences between diets were observed (data not shown). The carcass conformation was not affected by the diet ( $P > 0.05$ ). In reference to tissue distribution, there was a difference ( $P = 0.03$ ) in the amount of subcutaneous fat of the left shoulder dissection, although no differences were found in any other tissue (muscle, intermuscular fat, bone or wastes).



Different doses of DHA in the diet had no effect in the measured parameters of meat quality (Table 2). Regarding the chemical parameters of meat quality, no significant differences were observed between diets (Table 2).

The addition of an exogenous source of DHA affected the amount of this fatty acid in the different analyzed fat depots. Besides, the quantity of the DHA supplied with the diet also had an important influence in the final amount, being higher the quantity in the tissue when the DHA supplied with the diet was bigger ( $P < 0.001$ ).

With regard to the intramuscular fat (Table 3), the three fatty acids found in a higher amount for all diets were C18:1n9c, C16:0 and C18:2n6c. While the C16:0 increased with the addition of DHA ( $P < 0.05$ ), the other two fatty acids decreased their values ( $P < 0.05$ ). Moreover, other fatty acids were affected by the addition of DHA: on one hand, C20:3n6 were reduced significantly ( $p < 0.05$ ) after the addition of DHA, while on the other hand C20:4n6, C20:5n3, C24:0 and C22:6n3 were increased ( $P < 0.05$ ). SFA and n-3 PUFA percentages were higher in MR-HD-DHA than in MR ( $P < 0.05$ ) while MR-HD-DHA MUFA, n-6 PUFA percentages and n6/n3 ratio were lower than MR ( $P < 0.05$ ), and PUFA percentage and AI were not affected by DHA milk replacer addition.

With respect to the perirenal fatty acids (Table 4) the three fatty acids more abundant were C18:1n9c, C16:0 and C18:0. While C18:0 did not change with the addition of DHA in the diet, C18:1n9c decreased its value with the increase in the amount of DHA in the diet ( $P < 0.001$ ), and C16:0 percentage slightly increased with the DHA addition to mil replacer ( $P < 0.05$ ), and there were no differences ( $P > 0.05$ ) between MR-LD-DHA and MR-HD-DHA. Other minor fatty acids also were changed their amounts with the treatments. Some of them were decreased with the addition of DHA ( $P < 0.05$ ) such as C20:3n6, and others were increased: C20:4n6, C20:5n3, C24:0 and C22:6n3, all of them

with statistical differences ( $P < 0.05$ ). MR SFA, PUFA, n-3 PUFA percentages were lower than MR-HD-DHA ( $P < 0.05$ ), and MR MUFA percentage and n-6/n-3 ratio were higher than MR-HD-DHA ( $P < 0.05$ ).

Pelvic fat fatty acid composition is shown in Table 5. In this case the three principal fatty acids found in this fat depot were: C18:1n9c, C16:0 and C18:0. Whereas the amount of C16:0 and C18:0 were not differ with the addition of DHA, C18:1n9c decreased its value as much as the amount of DHA was higher ( $P < 0.001$ ). The percentage of other minor fatty acids such as C20:4n6, C20:5n3, C24:0 and C22:6n3 also suffered the addition of DHA ( $P < 0.05$ ) increasing their values with the increase of the DHA concentration in the diet. With respect to the total fatty acids, MUFA and PUFA were clearly improved with the treatments, while the SFA content was kept constant. The n-3 PUFA percentage was significantly affected by the dose of DHA, such as the n-6/n-3 ratio ( $P < 0.001$ ).

Fatty acid composition of subcutaneous fat is shown in Table 6. The three fatty acids with a higher amount in this fat were C18:1n9c, C16:0 and C14:0. C18:1n9c and C14:0 did not suffer any change with the addition of DHA, although C16:0 was increased ( $P < 0.05$ ). Minor fatty acids also changed their amounts with the treatments: C18:2n6c and C20:3n6 were decreased ( $P < 0.05$ ) and C20:5n3, C24:0 and C22:6n3 increased their quantities reaching the maximum value with the biggest concentration of DHA. The MUFA percentage decreased and PUFA percentage increased as DHA dose increase ( $P < 0.05$ ). The n-3 PUFA percentage reached statistical significance ( $P < 0.001$ ) with the different doses of DHA, improving significantly the n-6/n-3 ratio.

Finally, for the fatty acid composition of the intermuscular fat (data shown in table 7), the three fatty acids with a higher amount were C18:1n9c, C16:0 and C14:0, being C16:0 the only fatty acid that increased its value with the treatment with respect to the

control diet ( $P < 0.05$ ). Among the minor fatty acids only a few suffered changes, such as C20:5n3, C24:0 and C22:6n3 which were increased their values with the different concentrations of DHA ( $P < 0.05$ ). In a general way for this tissue the treatments affected to the PUFA content, although in a similar way for both doses, and especially to the n-3 PUFA which was affected proportionally with the dose of DHA ( $P < 0.001$ ). The n-6/n-3 ratio was also improved ( $P < 0.001$ ).

The evolution of plasma IgG is shown in Figure 1. Values reached between 0.248 and 15.540 mg/mL for MR, 0.141 and 14.894 mg/mL for MR-LD-DHA and 0.246 and 14.877 mg/mL for MR-HD-DHA. No statistical differences were found between diets ( $P > 0.05$ ). With respect to the IgM results, the values ranged between the 0.129 and 0.965 mg/mL for MR, 0.080 and 0.502 for MR-LD-DHA and 0.157 and 0.566 mg/mL for MR-HD-DHA. The time factor clearly influenced in the concentrations ( $P < 0.001$ ). Chitotriosidase activity was not been affected neither the time nor the diet, with the values very uniform through the time (ranged from 404.99 to 3934.72 nM/mL/h). Regarding to the complement activity which data are recorded in Figure 1, the different treatments did not affected neither the classical nor the alternative pathway complement system activity, although the time factor influenced the activity in both cases ( $P < 0.001$ ).

## **DISCUSSION**

The effect of adding fat to the diets for ruminants depends not only on the type of fat but also on the amount added (Manso et al., 2009). Nevertheless in the present experience, animal performance was not affected, since no differences were observed in growth rate and food efficiency ratio, although in pigs and other animals fish oil supplementation seemed to reduce the inflammatory response and this may benefit growth performance (Gabler and Spurlock, 2008).

The voluntary feed intake of milk replacer by pre-ruminant animals is influenced by the dry matter content in the milk replacer (Sanz-Sampelayo et al., 2003), and for this reason it was decided to maintain constant the amount of dry matter although other parameters varied. On the other hand, Wistuba et al. (2005) observed a decrease in the ADG and in the voluntary feed intake with a supplementation of a 3% of fish oil. Rule et al. (1989) noted that food intake is often depressed when diets contain more than 8% fat, something that did not happen in the current study. However, in the present study, neither the ADG nor the voluntary feed intake was decreased during the experiment although the quantity of fat from the DHA-gold was higher (12.6 and 23.44% of the total fat of the MR-LD-DHA and MR-HD-DHA, respectively).

Neither conformation nor any yields of the carcass studied in this experiment were affected by the addition of the low or high dose of DHA. Data available in the literature purporting to improve conformation when feeding marine oils are inconsistent, finding more studies that did not report any difference (Radunz et al., 2009). Offal was not affected by the treatment. However, the subcutaneous fat was increased with the addition of DHA in agreement to other authors (Marinova et al., 2005) who reported that diets containing fish oil or fish meal influence the fat content and deposition in the carcass.

Regarding meat characteristics, no changes were found attributable to addition of the DHA. Tenderness, which is the most important sensory characteristic that determines meat quality, can be influenced by the amount and type of fat in meat (Wood et al., 2003), although the collagen content also is important, but none of these parameters were influenced by the DHA addition. Other authors found a higher retention of the protein, with an increase in the quantity of the fat (Sanz-Sampelayo et al., 2006) but in

present study was not been observed neither in the protein quantity nor in the muscle quantity.

Regarding to the effects of DHA in fatty acid composition, a clearly effect was recorded. Díaz et al. (2011) have already reported that the main factor affecting meat fatty acids of nutritional importance was the fatty acid profile of the animal diet. Moreover, several studies have shown that medium or long-term supplementation with lipid sources rich in n-3 fatty acids modify the meat fatty acid profile, improving the nutritional quality of meat (Raes et al., 2004).

The fact that the SFA was increased with the addition of DHA in some fat depots, although it seems a nonsense, is due to DHA-gold is rich in palmitic acid, the main SFA which rose. This is something also reported in fish oils that contains high content of SFA of which C16:0 is the major fatty acid (Díaz et al., 2011). The C18:1n9c is like in other species which determines the total content of MUFA (Bankalieva et al., 2000), and its amount decreased with the addition of DHA due to the incorporation of n-3 PUFA is mainly due to the substitution of the C18:1 fatty acid (Ashes et al, 1992; Scollan et al., 2001), although in subcutaneous and intermuscular fats the amount of this fatty acid was kept constant. Other authors (Sanz-Sampelayo et al., 2006) also reported a rise in the level of trans C18:1 in the muscle with fish oil, something that was not observed in the present study. C20:4n6 increased at MR-HD-DHA, maintained with the low dose, contrary to describe Scollan et al. (2001) who noted a lower content of this fatty acid in diets supplemented with n-3. C20:5n3 was clearly influenced by the dose of DHA used in a similar way than the own DHA, this was previously reported by Ashes et al (1992) who observed that the proportion of C20:5n3 and C22:6n3 increased in response to the level of fish oil supplementation in cattle muscle lipids. DHA seems to

have also a strong influence on the C24:0 content in a similar way that C20:5n3. This change in C24:0 had not been documented in the use of n-3 rich sources.

The n-6/n-3 ratio was improved strongly with the addition of DHA in all the tissues according to Navarro et al. (2008) using fish oil. Nowadays many organizations recommend the consumption of food rich in n-3 fatty acids and with a lower n-6/n-3 ratio (EFSA, 2010) due to there is an imbalance between these two kinds of fatty acids in favor to n-6 PUFA. This imbalance could produce damage for the human health because of the opposite effects which hold: n-6 products are important regulators of cellular functions with inflammatory, atherogenic and prothrombotic effects, antagonize the pro-inflammatory effects of n-6 fatty acids, down-regulate inflammatory genes and lipid synthesis, and stimulate fatty acid degradation (Schmitz and Ecker, 2008). However, there is not a consensus about the value, although 3:1 n-6 to n-3 ratio is valued (Kris-Etherton et al., 2010). With the addition of algal DHA in this work this value was achieved and even exceeded.

Fat with high atherogenicity index value is assumed to be more detrimental to the human health (Ulbricht and Southgate, 1991). Values of intramuscular fat showed a non significant increased with the addition of DHA contrary to expectations probably to the numeric changes in saturated and monounsaturated fatty acids, mainly in C16:0 and C18:1n9c, no being compensated for the increased in the total PUFA values. However, the atherogenic index of the goat kid meat is low,

The DHA supplementation in the current study did not enhance, or inhibit, any measure of the immune status of the kid. This is consistent with some studies, but not with others, although the responses vary with species, age and other parameters (Sijben and Calder, 2007).

Although in human nutrition the evolution of immunomodulatory feeds has accelerated, with the n-3 fatty acids as key components of these immunonutrients formulations because of their anti-inflammatory actions (Calder, 1997), this stimulation of the immune system was unexpected because previous studies in rat and humans shown that fish oil supplementation decreased the activity of the immune system through a decrease in IL-1 and TNF- $\alpha$  (Hankenson et al., 2000).

However, in ruminants, fat supplementation may interact with the absorption and metabolism of other nutrients (Harfoot and Hazlewood, 1997). This mechanism could be the responsible of the earlier beginning of the complement system activity because of the addition of CLA to a commercial milk replacer in goat kids so as reported Castro et al. (2008), who did not find any activity of the complement system in the first 60 d of life of goat kids fed with milk replacer. However, in this work, in which we were used a novel technique, this was not been observed, and the complement system activity started at first days of life, finding that the classical pathway is predominant versus the alternative pathway of the complement system in contrast to reported Castro et al. (2008).

Values of plasma IgG and IgM are comparable with those obtained by Argüello et al. (2004) only with a commercial milk replacer. However, no effect was found in IgG concentration with the addition of DHA. Many works have found an enhance of the IgG production with an addition of fish oil. Leonard et al. (2010) reported that the IgG concentration increased with a seaweed extract as with fish oil working in piglets, Wang et al. (2000) in chicks with a 5% of fish oil significantly increased IgG concentration, although other works did not find an effect on antibody reduction in rabbits (Kelley et al., 1988). IgM concentration did not vary so as Leonard et al. (2010) in piglets, although these authors found differences with respect to IgA. On the other hand, ChT

activity values were lower than those reported by Argüello et al. (2008) but similar to the values of Rodríguez et al. (2009) in goat kids of the same breed of this study. However, as far as we know, nobody had studied the ChT activity in relation with the addition of DHA. Thus, although n-3 fatty acids have been reported to exert immunomodulatory effects in livestock, the absence of clear effects of fish or algal oils in many studies like present study in goat kids, Lewis et al. (2008) in lambs or Caroprese et al. (2009) in cows show doubts relative to the use of these expensive sources. As Caroprese et al. (2009) reported it could be do to the amount administrated were insufficient to induce an evident improvement of the immune functions or because of the rumen biohydrogenation, something that in lambs and goat kids is discarded due to they are already not real ruminants. Nevertheless, fish oil seems to consistently improve immune functions in immunosuppressed animals ( Gabler and Spurlock, 2008) or physiological status (Wang et al., 2000).

#### **CONCLUSIONS**

Goat kids fed with an addition of algal DHA were improved their fatty acid composition of the intramuscular, perirenal, pelvic, subcutaneous and intermuscular fats in docosahexaenoic acid, being this increment dose dependent. However, no differences were found relative to growth and carcass or meat quality. Finally, according to previous reports, no changes were found according to immune status. These results indicate that the extra cost of this DHA consumption is justified to improve the fatty acid composition, but not for the other parameters.

#### **ACKNOWLEDGMENTS**

This study was financed by grant AGL2006-08444/GAN from Ministerio de Educación y Ciencia (Spanish Government). Special thanks to Martek Biosciences for providing



the DHA-Gold®, and Dr. Josué Martínez de la Puente for advice concerning statistical analysis.

**REFERENCES**

- Argüello A, Capote J, Ginés R and López JL 2001. Prediction of kid carcass composition by use of joint dissection. *Livestock Production Science* 67, 293-295.
- Argüello A, Castro N, Zamorano MJ, Castro-Alonso A and Capote J 2004. Passive transfer of immunity in kid goats fed refrigerated and frozen goat colostrum and commercial sheep colostrum. *Small Ruminant Research* 54, 237-241.
- Argüello A, Castro N, Capote J and Solomon M 2005. Effects of diet and live weight at slaughter on kid meat quality. *Meat Science* 70, 173-179.
- Argüello A, Castro N, Capote J and Solomon MB 2007. The influence of artificial rearing and live weight at slaughter on kid carcass characteristics. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 6, 20-25.
- Argüello A, Castro N, Batista M, Moreno-Indias I, Morales-delaNuez A, Sánchez-Macías D, Quesada E and Capote J 2008. Chitotriosidase activity in goat blood and colostrum. *Journal of Dairy Science* 91, 2067-2070.
- Ashes JR, Siebert BD, Suresh KG, and Cuthbertson AZ 1992. Incorporation of n-3 Fatty Acids of Fish Oil into Tissue and Serum Lipids of Ruminants. *Lipids* 27, 629-633.
- Banskalieva V, Sahlub T and Goetsch AL 2000. Fatty acid composition of goat muscles and fat depots: a review. *Small Ruminant Research* 37, 255-268.
- Calder PC 1997. n-3 Polyunsaturated fatty acids and cytokine production in health and disease. *Annals of Nutrition and Metabolism* 41, 203-234.
- Caroprese M, Marzano A, Entrican G, Wattegedera S, Albenzio M and Sevi A 2009. Immune response of cows fed polyunsaturated fatty acids under high ambient temperatures *Journal of Dairy Science* 92, 2796-2803.

- Castro N, Acosta F, Niño T, Vivas J, Quesada E and Capote J 2008. The effects of diet and age on serum complement system activity in goat kids. *Livestock Science* 119, 102-106.
- Díaz MT, Cañeque V, Sánchez CI., Lauzurica S, Pérez C, Fernández C, Álvarez I and De la Fuente J 2011. Nutritional and sensory aspects of light lamb meat enriched in n\_3 fatty acids during refrigerated storage. *Food Chemistry* 124, 147-155.
- EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition, and Allergies (NDA). 2010. Scientific Opinion on Dietary Reference Values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, *trans* fatty acids, and cholesterol. *EFSA Journal* 8, 1461-1568.
- Gabler NK and Spurlock ME 2008. Integrating the immune system with the regulation of growth and efficiency. *Journal of Animal Science* 86, 64-74.
- Granados MV 2000. Influencia del genotipo y la dieta sobre la calidad de la canal y de la carne porcina. Efecto de a-tocoferol acetato sobre la estabilidad a la oxidación de la carne. PhD Diss. Universidad de Murcia.
- Hankenson KD, Watkins BA, Schoenlein IA, Allen KG and Turek JJ 2000. Omega-3 fatty acids enhance ligament fibroblast collagen formation in association with changes in interleukin-6 production. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 223, 88-95.
- Harfoot CG and Hazlewood GP 1997. Lipid metabolism in the rumen. Pages 382-426 in *The Rumen Microbial Ecosystem*. Hobson PN and Stewart CS, ed. Chapman & Hall, New York, NY.

- Kelley DS, Nelson GJ, Serrato CM, Schmidt PC and L. Branch B, 1988. Effects of type of dietary fat on indices of immune status of rabbits. *Journal of Nutrition* 118, 1376-1384.
- Kouba M and Mourot J 2011. A review of nutritional effects on fat composition of animal products with special emphasis on n-3 polyunsaturated fatty acids. *Biochimie* 93, 13-17.
- Kris-Etherton P, Fleming J and Harris WS 2010. The debate about n-6 polyunsaturated fatty acid recommendations for cardiovascular health. *Journal of American Dietetic Association* 110, 201-204.
- Leonard SG, Sweeney T, Bahar B, Lynch BP and O'Doherty JV 2010. Effect of maternal fish oil and seaweed extract supplementation on colostrum and milk composition, humoral immune response, and performance of suckled piglets. *Journal of Animal Science* 88, 2988-2997.
- Lewis GS, Wulster-Radcliff MC and Herbein JH 2008. Fatty acid profiles, growth, and immune responses of neonatal lambs fed milk replacer and supplemented with fish oil or safflower oil. *Small Ruminant Research* 79, 167-173.
- Manso T, Bodas R, Castro T, Jimeno V and Mantecon AR 2009. Animal performance and fatty acid composition of lambs fed with different vegetable oils. *Meat Science* 83, 511-516.
- Marinova P, Banskalieva V and Tzvetkova V 2005. Body and carcass composition, and meat quality of kids fed fish oil supplemented diet. *Options Méditerranèennes*. 67, 151-156.
- Moghadasian MH 2008. Advances in Dietary Enrichment with N-3 Fatty Acids. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 48, 402-410.

- Navarro MCG, Ramos Morales E, De la Torre Adarve G, Fernández Navarro J R, Rodríguez Osorio M, Gil Extremera F and Sanz Sampelayo MR 2008. Growth of Pre-ruminant Kid Goats and the Composition of Carcass Fat Deposits: Effects of Providing a PUFA-rich Fat in the Milk Replacer and Influence of the Kidding Season. *Food Science and Technology International* 14, 85-94.
- Radunz AE, Wickersham L.A, Loerch SC, Fluharty FL, Reynolds CK and Zerby HN 2009. Effects of dietary polyunsaturated fatty acid supplementation on fatty acid composition in muscle and subcutaneous adipose tissue of lambs. *Journal of Animal Science* 87, 4082-4091.
- Raes K, DeSmet S and Demeyer D 2004. Effect of dietary fatty acids on incorporation of long chain polyunsaturated fatty acids and conjugated linoleic acid in lamb, beef and pork meat: a review. *Animal Feed Science and Technology* 113, 199-221.
- Rodríguez C, Castro N, Capote J, Morales-delaNuez A, Moreno-Indias I, Sánchez-Macías D and Argüello A 2009. Effect of colostrum immunoglobulin concentration on immunity in Majorera goat kids. *Journal of Dairy Science* 92, 1696-1701.
- Rule DC, Wu WH, Busboom JR, Hinds FC and Kercher CJ 1989. Dietary canola seeds alter the fatty acid composition of bovine subcutaneous adipose tissue. *Nutrition Reports International* 39, 781-786.
- Sanz Sampelayo MR, Allegretti L, Gil Extremera F and Boza J 2003. Growth, body composition and energy utilization in pre-ruminant goat kids Effect of dry matter concentration in the milk replacer and animal age. *Small Ruminant Research* 49, 61-67.

- Sanz Sampelayo MR, Fernández JR, Ramos E, Hermoso R, Gil Extremera F and Boza J 2006. Effect of providing a polyunsaturated fatty acid-rich protected fat to lactating goats on growth and body composition of suckling goat kids. *Animal Science* 82, 337-344.
- Schmitz G and Ecker J 2008. The opposing effects of n\_3 and n\_6 fatty acids. *Progress in lipid Research* 47, 147-155.
- Scollan ND, Choi NJ, Kurt E, Fisher M and Wood JD, 2001. Manipulating the fatty acid composition of muscle and adipose tissue in beef cattle. *British Journal of Nutrition* 85, 115-124
- Sijben JW and Calder PC 2007. Differential immunomodulation with longchain n-3 PUFA in health and chronic disease. *Proceedings of the Nutrition Society* 66, 237-259.
- Ulbricht TLV and Southgate DAT 1991. Coronary heart disease: seven dietary factors. *The lancet* 338, 985-992.
- Wang YW, Field CJ and Sim JS 2000. Dietary Polyunsaturated Fatty Acids Alter Lymphocyte Subset Proportion and Proliferation, Serum Immunoglobulin G Concentration, and Immune Tissue Development in Chicks. *Poultry Science* 79, 1741-1748.
- Wistuba TJ, Kegley EB, Apple JK and Davis ME 2005. Influence of fish oil supplementation on growth and immune system characteristics of cattle. *Journal of Animal Science* 83, 1097-1101.
- Wood JD, Richardson RI, Nute GR, Fisher AV, Campo MM, Kasapidou E, Sheard PR and Enser M 2003. Effects of fatty acids on meat quality: a review. *Meat Science* 66, 21-32.

Yeom KH, Van Trierum G, Hache A, Lee KW and Beynen AC 2002. Effect of protein: energy ratio in milk replacers on growth performance of goat kids. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 86, 137-143.

Table 1. Growth and Carcass quality characteristics.

	DIET			SEM
	MR	MR-LD-DHA	MR-HD-DHA	
<b>ADG (g/d)</b>	124.32	145.45	135.67	0.005
<b>FOOD EFFICIENCY RATIO (g/kg)</b>	595.20	561.60	641.60	23.52
<b>LWS (g)</b>	8032.50	8021.67	7958.33	41.52
<b>HCW (g)</b>	4335.83	4340.00	4232.50	38.49
<b>CCW (g)</b>	4185.00	4190.00	4093.33	36.1
<b>NWS (g)</b>	7810.13	7738.57	7652.82	47.57
<b>NCY (%)</b>	55.52	56.10	55.32	0.45
<b>CCY (%)</b>	52.08	52.24	51.44	0.33
<b>CHILLING LOSSES (%)</b>	3.47	3.45	3.28	0.08
<b>CARCASS COMPACTNESS (%)</b>	96.75	96.57	93.00	1.05
<b>LONG LEG COMPACT INDEX 1 (%)</b>	42.15	46.02	41.91	1.91
<b>LONG LEG COMPACT INDEX 2 (%)</b>	135.1	133.63	131.96	2.04
<b>TISSUE DISTRIBUTION</b>				
<b>LEFT SHOULDER (g)</b>	419.68	405.25	398.48	5.37
<b>MUSCLE (%)</b>	61.73	62.30	63.12	0.44
<b>BONE (%)</b>	31.04	30.31	29.85	0.53
<b>SUBCUTANEOUS FAT (%)</b>	0.79 <sup>b</sup>	1.62 <sup>a</sup>	1.24 <sup>ab</sup>	0.24
<b>INTERMUSCULAR FAT (%)</b>	2.45	1.67	1.66	0.53
<b>WASTES (%)</b>	3.78	3.78	3.95	0.12

MR: Milk replacer, MR-LD-DHA: Milk replacer- low dose- DHA, MR-HD-DHA: Milk replacer- high dose- DHA.

ADG: Average Daily Gain; LWS: Life Weight at Slaughter; HCW: Hot Carcass Weight; CCW: Cold Carcass Weight; NWS: Net Weight at Slaughter; NCY: Net Carcass Yield; CCY: Commercial Carcass Yield.

<sup>a-c</sup>Values in the same row without a common superscript letter are significantly different (P<0.05)



Table 2. Meat quality characteristics.

	DIET			SEM
	MR	MR-LD-DHA	MR-HD-DHA	
<b>pH 0</b>	6.24	6.11	6.29	0.05
<b>ph 24</b>	5.63	5.64	5.64	0.02
<b>L 0</b>	55.59	53.48	51.15	0.86
<b>a 0</b>	11.50	12.12	11.95	0.49
<b>b 0</b>	1.39	0.96	1.48	0.19
<b>CROMA 0</b>	11.6	12.19	12.05	0.49
<b>HUE 0</b>	7.03	94.37	6.93	19.95
<b>L24</b>	58.66	55.53	55.38	0.75
<b>a24</b>	11.59	13.48	12.76	0.49
<b>b 24</b>	3.51	4.65	4.59	0.43
<b>CROMA 24</b>	12.16	14.40	13.60	0.55
<b>HUE 24</b>	16.79	18.70	16.13	1.81
<b>WHC (%)</b>	23.17	24.83	24.00	0.52
<b>COOKING LOSSES (%)</b>	33.91	34.46	33.92	0.24
<b>TENDERNESS (N)</b>	42.61	46.89	51.19	2.47
<b>PROTEIN (%)</b>	19.18	19.61	19.73	0.13
<b>MOISTURE (%)</b>	77.45	76.77	76.84	0.19
<b>INTRAMUSCULAR FAT (%)</b>	0.86	1.09	1.04	0.07
<b>ASH (%)</b>	0.83	0.86	0.80	0.02
<b>TOTAL COLLAGEN (µg HPRO)</b>	102.01	130.75	154.36	13.86
<b>SOLUBLE COLLAGEN (µg HPRO)</b>	55.96	52.82	54.67	5.41
<b>SOLUBLE/TOTAL COLLAGEN RATIO (%)</b>	54.79	40.53	38.65	3.54

MR: Milk replacer, MR-LD-DHA: Milk replacer- low dose- DHA, MR-HD-DHA: Milk replacer- high dose- DHA.

WHC: Water Holding Capacity.

<sup>a-c</sup>Values in the same row without a common superscript letter are significantly different

(P<0.05)

Table 3. Intramuscular fatty acid profile.

	DIET			SEM
	MR	MR-LD-DHA	MR-HD-DHA	
<b>C6:0</b>	0.002	0.0125	0.009	0.004
<b>C8:0</b>	0.001	0.001	0.000	0.000
<b>C10:0</b>	0.020	0.009	0.018	0.004
<b>C11:0</b>	0.006	0.001	0.004	0.002
<b>C12:0</b>	0.747	0.535	0.609	0.065
<b>C13:0</b>	5.133	4.251	6.001	0.576
<b>C14:0</b>	2.901	3.365	3.074	0.149
<b>C14:1</b>	0.175	0.182	0.131	0.020
<b>C15:0</b>	0.185	0.269	0.314	0.043
<b>C15:1</b>	0.057	0.046	0.050	0.004
<b>C16:0</b>	19.972 <sup>a</sup>	22.673 <sup>b</sup>	22.323 <sup>b</sup>	0.402
<b>C16:1</b>	1.011	1.097	0.995	0.118
<b>C16:2</b>	0.341	0.350	0.331	0.004
<b>C16:3</b>	0.269	0.208	0.202	0.016
<b>C17:1</b>	0.004	0.002	0.004	0.000
<b>C16:4</b>	0.003	0.003	0.002	0.000
<b>C18:0</b>	12.313	10.992	11.197	0.248
<b>C18:1n9t</b>	0.234	0.241	0.198	0.015
<b>C18:1n9c</b>	31.548 <sup>a</sup>	30.635 <sup>ab</sup>	25.984 <sup>b</sup>	0.889
<b>C18:2n6t</b>	0.081	0.052	0.054	0.006
<b>C18:2n6c</b>	19.177 <sup>a</sup>	12.103 <sup>b</sup>	10.815 <sup>b</sup>	0.988
<b>C18:3n6</b>	0.135	0.060	0.106	0.019
<b>C18:3n3</b>	0.274	0.186	0.203	0.017
<b>C20:0</b>	0.187	0.169	0.145	0.007
<b>C18:4n3</b>	0.230	0.103	0.091	0.047
<b>C20:1</b>	0.022	0.003	0.005	0.012
<b>C20:3n6</b>	0.984 <sup>a</sup>	0.413 <sup>b</sup>	0.275 <sup>b</sup>	0.097
<b>C22:0</b>	0.602	0.457	0.489	0.025
<b>C20:4n6</b>	0.033 <sup>a</sup>	0.076 <sup>a</sup>	0.166 <sup>b</sup>	0.016
<b>C20:5n3</b>	0.481 <sup>a</sup>	3.456 <sup>b</sup>	4.920 <sup>c</sup>	0.474
<b>C22:2</b>	0.049	0.002	0.001	0.017
<b>C23:0</b>	0.582	0.588	0.465	0.072
<b>C24:0</b>	0.423 <sup>a</sup>	2.215 <sup>b</sup>	3.090 <sup>c</sup>	0.285
<b>C24:4n6</b>	1.202	1.120	1.155	0.061
<b>C22:6n3</b>	0.615 <sup>c</sup>	4.125 <sup>b</sup>	6.575 <sup>a</sup>	0.620
<b>SFA</b>	43.073 <sup>b</sup>	45.538 <sup>ab</sup>	47.737 <sup>a</sup>	0.636
<b>MUFA</b>	33.051 <sup>a</sup>	32.206 <sup>ab</sup>	27.366 <sup>b</sup>	0.943
<b>PUFA</b>	23.826	22.234	24.896	0.726
<b>n-3 PUFA</b>	1.600 <sup>c</sup>	7.870 <sup>b</sup>	11.789 <sup>a</sup>	1.061
<b>n-6 PUFA</b>	21.613 <sup>a</sup>	13.823 <sup>b</sup>	12.571 <sup>b</sup>	1.103
<b>n6/n3 RATIO</b>	13.830 <sup>a</sup>	1.779 <sup>b</sup>	1.080 <sup>b</sup>	1.449
<b>AI</b>	0.570	0.674	0.673	0.019

MR: Milk replacer, MR-LD-DHA: Milk replacer- low dose- DHA, MR-HD-DHA: Milk replacer- high dose- DHA.

AI: Atherogenicity Index.

<sup>a-c</sup>Values in the same row without a common superscript letter are significantly different (P<0.05)

Table 4. Perirenal fat fatty acid profile.

<b>DIET</b>				
	<b>MR</b>	<b>MR-LD-DHA</b>	<b>MR-HD-DHA</b>	<b>SEM</b>
<b>C6:0</b>	0.004	0.005	0.002	0,001
<b>C8:0</b>	0.001	0.001	0.001	0,001
<b>C10:0</b>	0.142	0.167	0.124	0.012
<b>C11:0</b>	0.001	0.002	0.001	0.000
<b>C12:0</b>	4.680	3.541	3.530	0.194
<b>C13:0</b>	0.544	0.653	0.816	0.079
<b>C14:0</b>	10.554	10.057	10.496	0.119
<b>C14:1</b>	0.166	0.099	0.071	0.018
<b>C15:0</b>	0.223	0.227	0.281	0.015
<b>C15:1</b>	0.101	0.094	0.087	0.002
<b>C16:0</b>	29.130 <sup>a</sup>	30.314 <sup>b</sup>	30.728 <sup>b</sup>	0.206
<b>C16:1</b>	1.204	1.197	0.862	0.066
<b>C16:2</b>	0.522	0.533	0.535	0.007
<b>C16:3</b>	0.257	0.250	0.174	0.014
<b>C17:1</b>	0.003	0.003	0.002	0,000
<b>C16:4</b>	0.005	0.004	0.006	0.001
<b>C18:0</b>	13.504	13.983	13.717	0.261
<b>C18:1n9t</b>	0.283	0.221	0.242	0.026
<b>C18:1n9c</b>	33.586 <sup>a</sup>	31.347 <sup>b</sup>	28.283 <sup>c</sup>	0.575
<b>C18:2n6t</b>	0.09	0.095	0.078	0.004
<b>C18:2n6c</b>	4.354	4.156	4.039	0.059
<b>C18:3n6</b>	0.044	0.042	0.029	0.003
<b>C18:3n3</b>	0.124	0.124	0.111	0.014
<b>C20:0</b>	0.188	0.190	0.135	0.009
<b>C18:4n3</b>	0.126	0.104	0.074	0.017
<b>C20:1</b>	0.003	0.008	0.006	0.001
<b>C20:3n6</b>	0.032 <sup>a</sup>	0.017 <sup>b</sup>	0.005 <sup>c</sup>	0.003
<b>C22:0</b>	0.027	0.052	0.057	0.005
<b>C20:4n6</b>	0.002 <sup>b</sup>	0.052 <sup>a</sup>	0.080 <sup>a</sup>	0.010
<b>C20:5n3</b>	0.003 <sup>c</sup>	0.208 <sup>b</sup>	0.412 <sup>a</sup>	0.042
<b>C22:2</b>	0.035	0.014	0.004	0.004
<b>C23:0</b>	0.046	0.029	0.047	0.005
<b>C24:0</b>	0.032 <sup>c</sup>	0.526 <sup>b</sup>	1.239 <sup>a</sup>	0.123
<b>C24:4n6</b>	0.045	0.240	0.384	0.035
<b>C22:6n3</b>	0.035 <sup>c</sup>	1.444 <sup>b</sup>	3.340 <sup>a</sup>	0.340
<b>SFA</b>	58.975 <sup>b</sup>	59.746 <sup>ab</sup>	61.174 <sup>a</sup>	0.308
<b>MUFA</b>	35.348 <sup>a</sup>	32.969 <sup>b</sup>	29.554 <sup>c</sup>	0.617
<b>PUFA</b>	5.642 <sup>c</sup>	7.271 <sup>b</sup>	9.268 <sup>a</sup>	0.377
<b>n-3 PUFA</b>	0.289 <sup>c</sup>	1.879 <sup>b</sup>	3.938 <sup>a</sup>	0.378
<b>n-6 PUFA</b>	4.568	4.603	4.615	0.044
<b>n6/n3 RATIO</b>	15.924 <sup>a</sup>	2.498 <sup>b</sup>	1.216 <sup>b</sup>	1.699

<b>IA</b>	1.845	1.843	1.965	0.024
-----------	-------	-------	-------	-------

MR: Milk replacer, MR-LD-DHA: Milk replacer- low dose- DHA, MR-HD-DHA: Milk replacer- high dose- DHA.

AI: Atherogenicity Index.

<sup>a-c</sup>Values in the same row without a common superscript letter are significantly different (P<0.05)

Table 5. Pelvic fatty acid profile.

	<b>DIET</b>			
	<b>MR</b>	<b>MR-LD-DHA</b>	<b>MR-HD-DHA</b>	<b>SEM</b>
<b>C6:0</b>	0.005	0.005	0.004	0.001
<b>C8:0</b>	0.000	0.000	0.000	0.000
<b>C10:0</b>	0.179	0.157	0.137	0.017
<b>C11:0</b>	0.005	0.002	0.001	0.001
<b>C12:0</b>	3.914	3.448	3.466	0.245
<b>C13:0</b>	0.874	0.868	1.194	0.085
<b>C14:0</b>	10.018	9.803	10.028	0.124
<b>C14:1</b>	0.159	0.188	0.115	0.017
<b>C15:0</b>	0.296	0.228	0.228	0.029
<b>C15:1</b>	0.121	0.091	0.083	0.009
<b>C16:0</b>	29.543	30.287	30.48	0.330
<b>C16:1</b>	1.395	1.236	1.134	0.044
<b>C16:2</b>	0.586	0.526	0.506	0.030
<b>C16:3</b>	0.328	0.258	0.231	0.018
<b>C17:1</b>	0.003	0.003	0.003	0.000
<b>C16:4</b>	0.005	0.004	0.003	0.000
<b>C18:0</b>	13.071	13.408	12.822	0.267
<b>C18:1n9t</b>	0.240	0.326	0.256	0.032
<b>C18:1n9c</b>	34.398 <sup>a</sup>	32.055 <sup>b</sup>	29.708 <sup>c</sup>	0.525
<b>C18:2n6t</b>	0.110	0.092	0.087	0.007
<b>C18:2n6c</b>	3.943	4.111	3.911	0.149
<b>C18:3n6</b>	0.066	0.043	0.038	0.006
<b>C18:3n3</b>	0.143	0.155	0.148	0.014
<b>C20:0</b>	0.203	0.186	0.167	0.016
<b>C18:4n3</b>	0.114	0.104	0.096	0.004
<b>C20:1</b>	0.006	0.009	0.005	0.001
<b>C20:3n6</b>	0.025	0.038	0.041	0.005
<b>C22:0</b>	0.028	0.052	0.070	0.014
<b>C20:4n6</b>	0.001 <sup>c</sup>	0.050 <sup>b</sup>	0.093 <sup>a</sup>	0.009
<b>C20:5n3</b>	0.004 <sup>c</sup>	0.215 <sup>b</sup>	0.436 <sup>a</sup>	0.044
<b>C22:2</b>	0.039	0.017	0.001	0.014
<b>C23:0</b>	0.051	0.045	0.036	0.005
<b>C24:0</b>	0.028 <sup>c</sup>	0.475 <sup>b</sup>	1.101 <sup>a</sup>	0.111
<b>C24:4n6</b>	0.061	0.234	0.373	0.033
<b>C22:6n3</b>	0.038 <sup>c</sup>	1.280 <sup>b</sup>	2.995 <sup>a</sup>	0.304
<b>SFA</b>	58.798	58.965	59.735	0.350
<b>MUFA</b>	36.121 <sup>a</sup>	33.907 <sup>b</sup>	31.305 <sup>c</sup>	0.552
<b>PUFA</b>	5.046 <sup>c</sup>	7.111 <sup>b</sup>	8.959 <sup>a</sup>	0.417
<b>n-3 PUFA</b>	0.304 <sup>c</sup>	1.755 <sup>b</sup>	3.675 <sup>a</sup>	0.346
<b>n-6 PUFA</b>	3.712	4.569	4.543	0.199
<b>n6/n3 RATIO</b>	13.696 <sup>a</sup>	2.656 <sup>b</sup>	1.259 <sup>b</sup>	1.692
<b>AI</b>	1.760	1.780	1.841	0.025

MR: Milk replacer, MR-LD-DHA: Milk replacer- low dose- DHA, MR-HD-DHA: Milk replacer- high dose- DHA.

AI: Atherogenicity Index.

<sup>a-c</sup>Values in the same row without a common superscript letter are significantly different (P<0.05)

Table 6. Subcutaneous fatty acid profile.

SUBCUTANEOUS FAT FATTY ACIDS				
	MR	MR-LD-DHA	MR-HD-DHA	SEM
<b>C6:0</b>	0.003	0.005	0.003	0.001
<b>C8:0</b>	0.000	0.000	0.000	0.000
<b>C10:0</b>	0.057	0.025	0.031	0.009
<b>C11:0</b>	0.000	0.000	0.000	0.000
<b>C12:0</b>	3.286	2.470	2.360	0.204
<b>C13:0</b>	2.236	2.624	1.566	0.256
<b>C14:0</b>	9.226	8.760	8.770	0.189
<b>C14:1</b>	0.462	0.425	0.401	0.015
<b>C15:0</b>	0.208	0.254	0.236	0.009
<b>C15:1</b>	0.094	0.089	0.080	0.002
<b>C16:0</b>	26.596 <sup>b</sup>	28.517 <sup>a</sup>	28.869 <sup>a</sup>	0.321
<b>C16:1</b>	2.994	1.901	2.642	0.175
<b>C16:2</b>	0.436	0.436	0.425	0.007
<b>C16:3</b>	0.360	0.346	0.322	0.006
<b>C17:1</b>	0.0025	0.001	0.001	0.000
<b>C16:4</b>	0.007	0.008	0.005	0.001
<b>C18:0</b>	8.843	8.267	7.067	0.318
<b>C18:1n9t</b>	0.159	0.256	0.360	0.038
<b>C18:1n9c</b>	39.822	37.607	36.176	0.640
<b>C18:2n6t</b>	0.128	0.124	0.103	0.004
<b>C18:2n6c</b>	4.261 <sup>a</sup>	3.863 <sup>ab</sup>	3.661 <sup>b</sup>	0.099
<b>C18:3n6</b>	0.055	0.053	0.047	0.001
<b>C18:3n3</b>	0.130	0.158	0.167	0.008
<b>C20:0</b>	0.256	0.108	0.233	0.023
<b>C18:4n3</b>	0.104	0.041	0.066	0.008
<b>C20:1</b>	0.002	0.005	0.007	0.001
<b>C20:3n6</b>	0.036 <sup>a</sup>	0.022 <sup>b</sup>	0.020 <sup>b</sup>	0.002
<b>C22:0</b>	0.029	0.049	0.072	0.006
<b>C20:4n6</b>	0.001	0.000	0.040	0.010
<b>C20:5n3</b>	0.010 <sup>a</sup>	0.302 <sup>b</sup>	0.883 <sup>c</sup>	0.074
<b>C22:2</b>	0.019	0.093	0.021	0.015
<b>C23:0</b>	0.034	0.166	0.040	0.022
<b>C24:0</b>	0.038 <sup>a</sup>	0.681 <sup>b</sup>	1.267 <sup>c</sup>	0.159
<b>C24:4n6</b>	0.053	0.313	0.472	0.056
<b>C22:6n3</b>	0.054 <sup>a</sup>	2.031 <sup>b</sup>	3.883 <sup>c</sup>	0.499
<b>SFA</b>	50.812	51.927	50.516	0.509
<b>MUFA</b>	43.535 <sup>a</sup>	40.283 <sup>ab</sup>	39.667 <sup>b</sup>	0.698
<b>PUFA</b>	5.634 <sup>c</sup>	7.698 <sup>b</sup>	9.795 <sup>a</sup>	0.547
<b>n-3 PUFA</b>	0.298 <sup>c</sup>	2.532 <sup>b</sup>	4.700 <sup>a</sup>	0.572
<b>n-6 PUFA</b>	4.533	4.375	4.343	0.066
<b>n6/n3 RATIO</b>	15.372 <sup>a</sup>	1.741 <sup>b</sup>	0.943 <sup>b</sup>	2.008
<b>AI</b>	1.360	1.377	1.347	0.031



MR: Milk replacer, MR-LD-DHA: Milk replacer- low dose- DHA, MR-HD-DHA: Milk replacer- high dose- DHA.

AI: Atherogenicity Index.

<sup>a-c</sup>Values in the same row without a common superscript letter are significantly different (P<0.05)

Table 7. Intermuscular fatty acid profile.

	<b>DIET</b>			
	<b>MR</b>	<b>MR-LD-DHA</b>	<b>MR-HD-DHA</b>	<b>SEM</b>
<b>C6:0</b>	0.003	0.002	0.001	0.000
<b>C8:0</b>	0.000	0.000	0.000	0.000
<b>C10:0</b>	0.071	0.068	0.065	0.011
<b>C11:0</b>	0.005	0.002	0.001	0.001
<b>C12:0</b>	3.545	2.331	2.557	0.272
<b>C13:0</b>	6.794	2.051	4.267	1.657
<b>C14:0</b>	9.342	9.39	8.917	0.154
<b>C14:1</b>	0.372	0.369	0.291	0.142
<b>C15:0</b>	0.210	0.367	0.248	0.044
<b>C15:1</b>	0.081	0.091	0.121	0.014
<b>C16:0</b>	25.93 <sup>b</sup>	28.804 <sup>a</sup>	28.263 <sup>a</sup>	0.495
<b>C16:1</b>	2.911	2.842	2.119	0.146
<b>C16:2</b>	0.412	0.465	0.429	0.013
<b>C16:3</b>	0.305	0.329	0.313	0.023
<b>C17:1</b>	0.002	0.002	0.002	0.000
<b>C16:4</b>	0.003	0.004	0.008	0.001
<b>C18:0</b>	8.889	8.254	8.078	0.289
<b>C18:1n9t</b>	0.248	0.337	0.191	0.046
<b>C18:1n9c</b>	35.600	36.358	34.57	0.974
<b>C18:2n6t</b>	0.096	0.096	0.102	0.010
<b>C18:2n6c</b>	4.006	4.009	4.073	0.267
<b>C18:3n6</b>	0.046	0.044	0.045	0.005
<b>C18:3n3</b>	0.128	0.097	0.169	0.016
<b>C20:0</b>	0.214	0.214	0.212	0.022
<b>C18:4n3</b>	0.087	0.061	0.057	0.009
<b>C20:1</b>	0.006	0.005	0.003	0.001
<b>C20:3n6</b>	0.026	0.010	0.011	0.003
<b>C22:0</b>	0.025	0.039	0.070	0.006
<b>C20:4n6</b>	0.000	0.020	0.037	0.008
<b>C20:5n3</b>	0.034 <sup>b</sup>	0.213 <sup>ab</sup>	0.425 <sup>a</sup>	0.056
<b>C22:2</b>	0.208	0.089	0.037	0.068
<b>C23:0</b>	0.141	0.099	0.067	0.036
<b>C24:0</b>	0.148 <sup>b</sup>	0.599 <sup>ab</sup>	1.067 <sup>a</sup>	0.145
<b>C24:4n6</b>	0.061	0.278	0.444	0.042
<b>C22:6n3</b>	0.047 <sup>c</sup>	1.787 <sup>b</sup>	3.728 <sup>a</sup>	0.410
<b>SFA</b>	55.318	52.491	53.823	1.116
<b>MUFA</b>	39.221	40.005	37.297	1.045
<b>PUFA</b>	5.253 <sup>b</sup>	7.415 <sup>a</sup>	8.843 <sup>a</sup>	0.485
<b>n-3 PUFA</b>	0.296 <sup>c</sup>	2.159 <sup>b</sup>	4.379 <sup>a</sup>	0.452
<b>n-6 PUFA</b>	4.236	4.458	3.712	0.259
<b>n6/n3 RATIO</b>	14.729 <sup>a</sup>	2.113 <sup>b</sup>	0.883 <sup>b</sup>	1.682
<b>AI</b>	1.535	1.450	1.444	0.041

MR: Milk replacer, MR-LD-DHA: Milk replacer- low dose- DHA, MR-HD-DHA: Milk replacer- high dose- DHA.

AI: Atherogenicity Index.

<sup>a-c</sup>Values in the same row without a common superscript letter are significantly different (P<0.05)

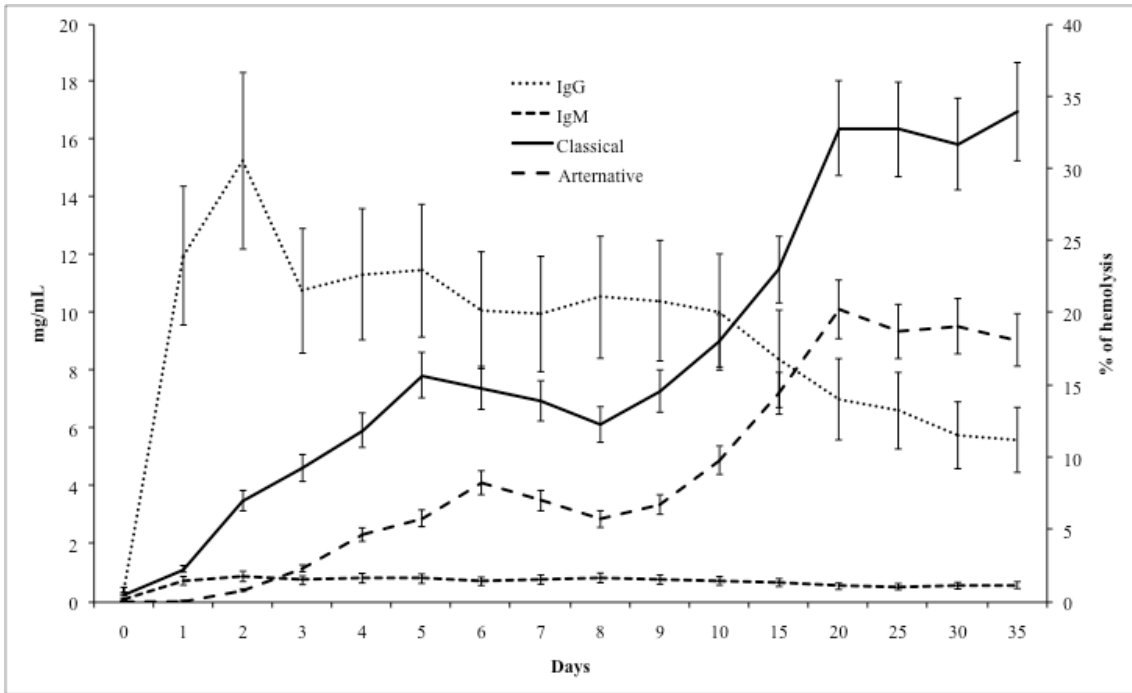


Figure 1. Changes in goat kid plasma IgG and IgM levels (left axis) and complement system activity by the classic and alternative pathways (right axis). Data in mean  $\pm$  SEM

**10. CAPÍTULO 4**

**Using DHA in goat kid rearing; effects on immune system and meat quality**

**Running head:** DHA effects on immune system and meat quality

**Using DHA in goat kid rearing; effects on immune system and meat quality**

I. Moreno-Indias\*, A. Morales-delaNuez\*, L. E. Hernández-Castellano\*, D. Sánchez-Macías\*, J. Capote\*\*, N. Castro\*, A. Argüello\*<sup>1</sup>

\*Universidad de las Palmas de Gran Canaria, 34513, Arucas, Spain.

\*\*Instituto Canario de Investigaciones Agrarias, P.O. Box 60, La Laguna, Spain.

<sup>1</sup>Corresponding author: A. Argüello, phone:+34928451094, fax: +34928451142, email: aarguello@dpat.ulpgc.es

<sup>2</sup>ACKNOWLEDGMENTS: This study was financed by grant AGL2006-08444/GAN from Ministerio de Educación y Ciencia (Spanish Government). Special thanks to Martek Biosciences for providing the DHA-Gold®, and Dr. Josué Martínez de la Puente for advice concerning statistical analysis.

### **ABSTRACT**

We analyzed the effects of dietary docosahexaenoic acid (**DHA**) on meat quality and the immune system of goat kids. The 3 experimental diets were: goat's milk (**GM**), cow's milk (**CM**), and cow's milk supplemented with DHA (**CM-DHA**). Animals were fed twice a day and weighed twice a week. Blood samples were collected from the jugular vein daily during the first 10 d of life and were subsequently collected every 5 d until slaughter. Measurements included: weight and size parameters of the carcass; meat pH, color, chemical composition, and tenderness; and fatty acid profiles of intramuscular, peri-renal, pelvic, subcutaneous and intermuscular fat depots. In addition, levels of IgG, IgM, complement system activity (classical and alternative pathways), and chitotriosidase activity were recorded. Results indicated that diet did not affect carcass parameters or proximate composition of the meat. However, C22:6n3 levels were enriched in **CM-DHA** animals ( $P<0.05$ ), and the n-6/n-3 PUFA index ratio was improved ( $P<0.05$ ). No differences in immune function were observed between groups. In conclusion, powdered whole **CM** is an effective option for feeding goat kids, and the addition of **DHA** to **CM** increases the quantity of this fatty acid in the meat.

**Keywords:** cow's milk, DHA, fatty acids

### **INTRODUCTION**

The biomedical community has developed multiple pharmacological tools to treat cardiovascular disease, but many researchers still believe that simple dietary modifications or nutritional supplements provide more natural and effective means to combat this problem. Since it was first suggested that diets rich in omega-3 fatty acids, such as those consumed by Eskimo communities, may reduce the incidence of cardiovascular disease (Dyerberg et al., 1975), many studies have been carried out to prove this point. Omega-3 fatty acids are highly enriched in fish, whose consumption has decreased in western societies. Instead, components of the western diet primarily contain saturated and omega-6 fatty acids, which are derived from vegetable oils that contain linoleic acid. Based on cardiovascular health considerations, the European Food Safety Authority recommends 250 mg/d intake of both eicosapentaenoic acid (**EPA**) and docosahexaenoic acid (**DHA**) (EFSA, 2010), 2 fatty acids derived from fish and fish oils (Din et al., 2004). However, it is very difficult to attain these levels of consumption with a diet lacking fish. For this reason, The American Dietetic Association recommends that people eat a wide variety of nutrient-rich foods to promote optimal health, but it concedes that dietary supplements may be needed to meet certain nutritional requirements (Marra and Boyar, 2009).

Goat meat is a good candidate for dietary DHA enrichment, as it is leaner than meat from other species: 50-65% less fat than cattle, and 42-59% less fat than lamb (Addrizzo, 1994). This strategy has been successfully applied in broilers, pigs (López-Ferrer et al., 2001; Kalogeropoulos, 2010; Kehui et al., 2011), and ruminants (Demeyer and Doreau, 1999; García Navarro et al. 2008; Woods et al., 2009).

The aim of this study was to investigate the effects of DHA addition to milk replacer on growth, carcass and meat quality, and the immune system of goat kids.



**MATERIALS AND METHODS*****Animals***

This study was conducted on the experimental farm of the Veterinary Faculty of Universidad de las Pamas de Gran Canaria (Spain), with consent from the University's Animal Ethical Committee. Thirty Majorera goat kids (15 males and 15 females) were randomly assigned to 3 equal groups. At birth, the kids were separated from their dams and dried. An ear tag was applied, the animals were weighed, and their umbilical cords were disinfected. For 2 d, kids were bottle-fed colostrum (8.95% gross protein, 8.66% fat, 3.91% lactose, 30.69 mg/mL IgG), according to Castro et al. (2005). After 2 d, the kids began to receive their experimental diets: fresh goat milk (**GM**), powdered whole cow's milk at a concentration of 16% (w/w) (**CM**), or powdered whole cow's milk supplemented with DHA (**CM-DHA**) (DHA-Gold®, Martek Biosciences, Columbia, MD, USA). The final concentration of CM-DHA was 16% (w/w): 15.1% of powdered whole cow milk, and 0.9% of DHA-Gold®. Goat kids were fed *ad libitum* twice a day until BW reached 8 kg. They were then slaughtered in accordance with welfare practices.

***Carcass***

Hot carcass weight (**HCW**), chilled carcass weight (**CCW**), and offal weights were recorded after slaughter. Net weight at slaughter (**NWS**) was calculated as live weight at slaughter (**LWS**) minus offal. Muscle pH was determined using a Crisson 507 pH meter with a combined electrode. The electrode was insertion into the *longissimus* muscle between the 12<sup>th</sup> and 13<sup>th</sup> rib. Measurements were taken at 2 time points: immediately after slaughter, and following 24 h of chilling. Muscle color was measured at the same time and at the same body site as for pH. Muscle color was determined using a Minolta

CR200 Chroma meter (where L\* depicts relative lightness, a\* indicates relative redness, and b\* represents relative yellowness).

Several indexes were calculated according to Argüello et al. (2007). Commercial carcass yield (**CCY**) was calculated as  $(CCW/LWS) \times 100$ . Net Carcass Yield (**NCY**) was calculated as  $(HCW/NWS) \times 100$ . Width between hips (**G**), carcass length (**L**), leg length (**F**), and hip perimeter (**B**) were all recorded. Carcass compactness index was calculated as  $(CCW/L)$ . Long leg compact index was calculated as  $(G/F)$  or  $(B/F)$ .

After chilling, each carcass was split in half. The left and right sides were divided into 5 primary cuts (neck, flank, ribs, shoulder, and long leg), and 2 minor cuts (kidney and tail), as described by Colomer-Rocher et al. (1987). Each piece was weighed, vacuum packed, and stored at  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  until analysis. To calculate tissue composition, the left shoulders (Argüello et al., 2001) were defrosted 24 h at  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ . After weighing, the shoulders were separated into dissectible muscle, bone, offal, subcutaneous fat, and intermuscular fat. Fat depots were subsequently processed for fatty acid analysis.

### ***Meat***

The *longissimus* muscle was used to measure moisture, fat, protein, and ash (AOAC, 1984). In addition, total collagen content and solubility were determined, according to Bonnet and Kopp (1984) and Hill (1966). The *semimembranous* muscles were used to measure thawing losses (weight frozen – weight thawed) and water holding capacity (**WHC**), according to Grau and Hamm (1953) as modified by Sierra (1973). *Semimembranous* muscles were cooked in plastic bags in a  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$  water bath for 30 min, and cooking losses were measured. Finally, tenderness was measured using a Warner-Bratzler shear force apparatus on an INSTRON Machine, according to Argüello et al. (2005).

### *Fat depots*

Fatty acid profiles were measured according to Granados (2000) and Folch et al. (1957). Analyses were performed on subcutaneous and intermuscular depots from the shoulder, pelvic and renal depots from the leg, and intramuscular depots from the *semimembranous* muscle.

### *Immune status*

For the first 10 d of life, blood samples were collected from the jugular vein on a daily basis. Subsequently, samples were collected every 5 d. Blood samples were collected in 2 types of tubes: heparinized for plasma samples, and non-heparinized for serum. Samples were centrifuged ( $2136 \times g$ , 5 min, 4 °C) immediately following collection, and aliquots of plasma and serum were placed at  $-20$  °C.

Plasma immunoglobulin levels were assayed using goat IgG and IgM ELISA kits (Bethil Laboratories, Montgomery, TX, USA). Plasma chitotriosidase (**ChT**) levels were measured as described by Argüello et al. (2008). Serum complement system activity was measured using the following protocol. DGHB<sup>++</sup> buffer (Hepes Gelatin Veronal Buffer with Ca<sup>++</sup> and Mg<sup>++</sup>: 5 mM HEPES, 71 mM NaCl, 0.15 mM CaCl<sub>2</sub>, 0.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 2.5% (w/v) glucose, 0.1% (w/v) gelatin, pH 7.4) was used to measure total complement system activity, and DGHB-Mg-EGTA buffer (4.2 mM Hepes, 59 mM NaCl, 7.0 mM MgCl<sub>2</sub>, 2.08% (w/v) glucose, 0.08% (w/v) gelatin, 10 mM EGTA, pH 7.4) was used to measure the alternative pathway. For total complement system activity, rabbit red blood cells and kid serum were both diluted to 5% in DGHB<sup>++</sup>; 100 µL of each was then mixed in a microtiter plate and incubated at 37 °C for 1 h. Cells were removed by centrifugation ( $2500 \times g$ , 5 min), and supernatant absorbance was measured at 405 nm using a microplate reader. Complete hemolysis was achieved by mixing the cells with distilled water (100 µL), and spontaneous lysis was produced by mixing the

diluted rabbit red blood cells with DGHB<sup>++</sup>. Complement-induced hemolysis of rabbit red blood cells by the test sera was defined as follows:  $[(A405 \text{ sample} - A405 \text{ spontaneous lysis}) / (A405 \text{ complete hemolysis} - A405 \text{ spontaneous lysis})] \times 100$ . The same protocol was performed with DGHB-Mg-EGTA buffer to measure the alternative pathway.

### ***Statistical analysis***

The SAS program package (Version 9.00, SAS Institute Inc., Cary, NC) was used for statistical analysis. A one-way ANOVA was used to evaluate carcass and meat measurements, whereas a PROC MIXED procedure factorial ANOVA (with repeated measures) was used to evaluate treatment effects on growth, plasma IgG and IgM concentrations, ChT activity, and complement system activity (total and alternative). Significant differences between means were identified using the Tukey test (Ott and Longnecker, 2001).

## **RESULTS AND DISCUSSION**

### ***Growth***

Addition of DHA to milk replacer (CM) did not affect growth of goat kids (Table 1). This result agrees with previous studies in which milk replacers have been used instead of goat milk (Argüello et al., 2007). Similar results have been seen with fish oils (Marinova et al., 2005; Navarro et al., 2008) and in lambs (Capper et al., 2007; Lewis et al., 2008). Our data indicate that CM is an excellent alternative feed source for goat kids. This represents an important finding, as in many parts of the world milk replacers are more expensive than whole powdered CM.

However, the food efficiency ratio was clearly influenced by the diet, as animals fed CM-DHA had a significantly higher food efficiency ratio than was seen with GM or CM ( $P = 0.038$ ). One possible explanation for this difference is that to preserve dry-

matter balance between diets, less CM was present in CM-DHA compared to CM alone (for every gram of DHA added, a gram of CM was subtracted). As DHA-Gold® and CM have non-identical chemical compositions, there may be uncontrolled nutritional differences between these 2 diets. It was decided to formulate the CM-DHA diet in this way because dry-matter levels are critical to maintain goat kid health (Sanz-Sampelayo et al., 2003). Regardless, as there were no differences between the GM and CM food efficiency ratios and no differences among growth rates, the decision to formulate the CM-DHA diet in this manner was likely correct.

### ***Carcass characteristics***

Diet did not significantly affect the percentage of offal with respect to LWS (data not shown). No statistically significant differences were found between groups for LWS, HCW, CCW, or chilling loss. The data for chilling loss were in agreement with those of Argüello et al. (2007), and the losses measured in our study were less than those reported by Santos et al. (2008). Concerning dressing percentages, no differences were detected for CCY or NCY. This agrees with Navarro et al. (2008) who fed fish oil to goat kids but did not observe any significant difference between diets. As was reported by Argüello et al. (2007), no differences between carcass compactness and long leg compactness were observed. These results reflect the similar compositions and energy values associated with these 3 diets.

Tissue composition of the left shoulder is shown in Table 1. Our data agree with those of Peña et al. (2007) and Argüello et al. (2003, 2007), although the latter study measured higher levels of subcutaneous fat than intermuscular fat. It is well documented, however, that in comparison to other ruminants (e.g., cattle or sheep) goats deposit more fat internally and less subcutaneously or intramuscularly (Bankalieva et al., 2000).

### ***Meat measurements***

Results concerning meat characteristics are shown in Table 2. Diet composition did not affect meat pH, either at the time of slaughter or after 24 h of chilling. Measured values were similar to those described by Marichal et al. (2003) and Argüello et al. (2005). However, our pH values were slightly lower than has been reported for other breeds (Ripoll et al., 2011). High meat pH indicates long-term stress, so these differences could reflect breed-specific responses to pre-slaughter handling (Dhanda et al., 2003). In addition, diet did not affect meat color either at the time of slaughter or after a 24-h chilling period. None of the measured parameters (L, a\*, b\*, Hue, or Chroma) were affected. A light meat color is important in suckling kids, because consumers expect young animals (which are preferred) to have the lightest meat. Animals in this study had relatively pale meat after 24 h of chilling ( $L^* = 59$  to  $62.3$ ) (Santos et al., 2008). These values are higher than those reported by Argüello et al. (2005) and Marichal et al. (2003) who also studied Majorera goats. Meat from this study was much lighter than has been reported for Criollo-Cordobés and Anglonubian kids (Peña et al., 2009) or the Murciano-Granadina breed (Bañón et al., 2006).

Diet did not affect the levels of moisture, protein, intramuscular fat, ash, collagen, or collagen solubility. Our proximal meat composition results are similar to previous reports that studied Majorera (Marichal et al., 2003; Argüello et al., 2005) and other breeds of goats (Bañón et al., 2006; Lee et al., 2008). In contrast, collagen solubility values were lower than reported by Marichal et al. (2003) and Argüello et al. (2005), although their animals had access to solid feed. According to Dransfield et al. (1983), however, collagen analysis is extremely imprecise.

Finally, significant differences were not found for WHC, cooking loss, or tenderness. Nevertheless, WHC was slightly higher than reported for Murciano-Granadina kids

(Bañón et al., 2006), whereas Warner-Bratzler shear force measurements were in agreement with previous studies using the same breed and muscle (Marichal et al., 2003; Argüello et al., 2005).

### ***Fatty acids***

Tables 3 to 7 show the fatty acid profile results obtained from intramuscular, peri-renal, pelvic, subcutaneous, and intermuscular fat. In all fat depots, the 2 most abundant fatty acids were palmitic acid (C16:0) and cis-oleic acid (C18:1n9c), as has been reported (Banskalieva et al., 2000; Yeom et al., 2002; Díaz et al., 2011). Levels of these 2 fatty acids essentially determined total SFA and MUFA values, respectively. It should be noted that in ruminants, C18:1 and C18:2 acids have trans and positional isomers, a trait that exclusively characterizes these animals (Pearson et al., 1977). Moreover, short-chain fatty acids (C4-C8) are undetectable in kid goat fat depots, indicating that short-chain acids are rapidly metabolized in kids, allowing for very little accumulation in adipose tissue (Bañón et al., 2006).

Animals fed the CM-DHA diet had higher levels of C22:6n3 (DHA) and C20:5n3 (EPA) compared to animals that did not receive supplemental DHA. Addition of DHA improved total PUFA levels only in intermuscular and subcutaneous fat, whereas omega-3 fatty acids were higher in all fat depots.

Goat kids fed CM-DHA exhibited n-6/n-3 PUFA indexes that were lower ( $P < 0.05$ ) in all fat depots when compared to both CM and GM controls. The n-6/n-3 PUFA index is a particularly important parameter with respect to human health, as extremely high values are often recorded (between 10 and 15). Although a clear consensus has not been reached, it is thought that the ideal human diet should have approximately 3 parts n6 to 1 part n3 essential fatty acids (Kris-Etherton et al., 2000). A ratio less than 5, however, is a reasonable goal (Kouba and Mourot, 2011). Increasing the n3 PUFA content of

animal feed, therefore, represents a promising and sustainable way of improving the nutritional value of meat without forcing consumers to change their eating habits (Muchenje et al., 2009). According to our results, the addition of DHA is extremely effective in this regard, reducing the n-6/n-3 PUFA index to 1 in goat meat.

As not every SFA has an equivalent effect on health (Banskalieva et al., 2000) additional indexes were also calculated. The most abundant fatty acids disproportionately affected most of these indexes. The atherogenic index (AI) was developed by Ulbricht and Southgate (1991) and is used to assess atherosclerosis risk by comparing levels of atherogenic fatty acids to those associated with healthy cardiac function. In this study, the AI ranged from 0.59 to 0.91 in intramuscular fat but reached much higher levels in the other fat depots. However, no consistent AI differences were found among diets. The AI for goat meat has received little attention in the literature. Most references to this index concern lamb, with AI values of ~0.6 for intramuscular fat and ~0.7 for subcutaneous fat (Manso et al., 2009). Depending on the age of the animal, intramuscular values vary considerably. Yakan and Ünal (2010) measured a range of 0.61 to 1.02, whereas Hernández-Castellano (2010) reported AI levels of 0.56 to 1.20 in the Palmera breed. Compared to other fat depots, these values are relatively high, indicating that PUFAs are not used in these tissues (Sanz-Sampelayo et al., 2006). Interestingly, the best AI values were measured in subcutaneous and intermuscular fat, which are consumed with the meat.

Although incorporation of C22:6n3 into tissues of CM-DHA animals was consistently evident, tissue-specific differences were also observed. Levels of C22:6n3 were higher in intramuscular fat than in other fat depots (Tables 3 to 7). This is because DHA is incorporated into muscle phospholipids but essentially absent from triglycerides of adipose tissues (Sanz-Sampelayo et al., 2006). This was also seen when fish oil was



used as a dietary source of omega-3, although in our study the source of omega-3 was a micro-seaweed. According to Sanz-Sampelayo et al. (2006), fish oil causes an increase in trans C18:1 within muscle. We did not observe a similar phenomenon, although we measured higher levels of trans C18:1 within fat depots.

### ***Immune response***

The time course of IgG plasma concentrations is shown in Figure 1. No statistical differences were observed between diets ( $P > 0.05$ ), and thus only means for all treatments are shown. Plasma IgG concentration ranged from 0.14 mg/mL on day 0 to 15.04 mg/mL. Values were similar to those obtained by Argüello et al. (2004) and Rodríguez et al. (2009) although higher than reported by Morales-delaNuez et al. (2009). IgM levels are also shown in Figure 1. As with IgG, diet did not statistically affect IgM levels ( $P > 0.05$ ), and thus only means for all treatments are shown.

Complement system activity results are shown in Figure 1 (right axis). No statistical differences were found among diets for the total complement system ( $P > 0.05$ ) or the alternative complement system ( $P > 0.05$ ), and thus only means for all treatments are shown. For both the total and alternative complement systems, activity values generally increased with age and peaked at 55.56% and 35.76% hemolysis, respectively. These activity values are higher than those reported by Castro et al. (2008), a difference likely attributable to the non-identical analytical techniques. Rodríguez et al. (2008) and Morales-delaNuez et al. (2009) did not observe any variation in complement system activity in response to diet, and they used a commercial milk replacer that Castro et al. (2008) demonstrated does not stimulate the complement system. In our study, similar complement system activity values were measured for all diets. Commercial milk replacers are primarily formulated with CM, so one would expect milk replacers and CM to affect the complement system in a similar way. However, there were differences,

which have probably been affected by measuring techniques. In addition, Castro et al. (2008) described all the complement system activity to the alternative pathway, whereas in our study the alternative pathway was responsible for only half of the total complement system activity and developed much later than the classical pathway. Our data agree with published reports for lambs (Oswald et al., 1990) and the colostrum of buffalo (Matheswaran et al., 2003). It is well documented, however, that the alternate pathway is very potent in goats (Venugopal et al., 1992).

Finally, ChT activity values ranged from 1556.29 to 1974.06 nmol/mL per hour. Neither diet nor time after birth affected serum ChT activity ( $P > 0.05$ ). Rodríguez et al. (2008) similarly demonstrated that ChT activity does not vary with age, although they only analyzed the first 5 days of life. These results are inconsistent, however, with those of Argüello et al. (2008), who generally measured higher values of ChT activity and found that ChT activity increases with age.

### **CONCLUSION**

We have demonstrated that supplementation of CM with DHA does not affect growth, carcass and meat characteristics, or immune status of goat kids. Powdered whole CM represents an effective alternative to GM or commercial milk replacers, thereby significantly reducing the cost of artificial rearing and increasing farm income. Although DHA supplementation did not impart any direct benefits to goat kids (e.g., growth), the fatty acid profile of the resultant meat was improved. In every tissue examined, DHA levels were higher (especially in intramuscular fat), and omega-6/omega-3 ratios were reduced.

### **LITERATURE CITED**

- Addrizzo, J. R. 2004. Use of goat milk and goat meat as therapeutic acids in cardiovascular diseases. [http://goats.ciemson.edu/ NC%20Handbook/helth.htm](http://goats.ciemson.edu/NC%20Handbook/helth.htm)
- AOAC, 1984. Official methods of Analysis. 3<sup>a</sup> Ed. Washington, D.C., A.O.A.C. 7060: 160.
- Argüello, A., J. Capote, R. Ginés, and J. L. López. 2001. Prediction of kid carcass composition by use of joint dissection. *Livest Prod. Sci.* 67 (2001) 293–295
- Argüello, A., J. Capote, A. Marichal and López, J. L. 2002. Effects of live weight at slaughter on tissue distribution in kids. *J. Appl. Anim. Res.*, 23: 43-48.
- Argüello, A., N. Castro, M. J. Zamorano, A. Castroalonso, and J. Capote. 2004. Passive transfer of immunity in kid goats fed refrigerated and frozen goat colostrum and commercial sheep colostrum. *Small Rumin. Res.* 54: 237–241.
- Argüello, A., N. Castro, J. Capote, and M. B. Solomon. 2005. Effects of diet and live weight at slaughter on kid meat quality. *Meat Sci.* 70:173–179.
- Argüello, A., N. Castro, J. Capote, and M. B. Solomon. 2007. The influence of artificial rearing and live weight at slaughter on kid carcass characteristics. *J. Anim. Vet. Adv.*, 6:20-25.
- Argüello A, N. Castro, M. Batista , I. Moreno-Indias , A. Morales-delaNuez , D. Sanchez-Macias., E. Quesada, and J. Capote. 2008. Chitotriosidase activity in goat blood and colostrum. *J. Dairy Sci.* 91:2067–2070.
- Banskalieva, V., T. Sahlub, and A. L. Goetsch. 2000. Fatty acid composition of goat muscles and fat depots: a review. *Small Rumin. Res.* 37:255-268.
- Bañón, S., R. Vila, A. Price, E. Ferrandini, and M. D. Garrido. 2006. Effects of goat milk or milk replacer diet on meat quality and fat composition of suckling goat kids. *Meat Sci.* 76:216–221.

- Bonnet, M., and J. Kopp. 1984. Dosage du collagene dans les tissus conjonctifs, la viande et les produits carnes. Cah. Tech. INRA 5:19–30.
- Capper, J. L., R. G. Wilkinson, A. M. Mackenzie, and L. A. Sinclair. 2007. The effect of fish oil supplementation of pregnant and lactating ewes on milk production and lamb performance. *Animal* 1:889–898.
- Castro, N., J. Capote, S. Álvarez, and A. Argüello. 2005. Effects of Lyophilized Colostrum and Different Colostrum Feeding Regimens on Passive Transfer of Immunoglobulin G in Majorera Goat Kids. *J. Dairy Sci.* 88:3650–3654.
- Castro, N., F. Acosta, T. Niño, J. Vivas, E. Quesada, and J. Capote. 2008. The effects of diet and age on serum complement system activity in goat kids. *Livest. Sci.* 119:102–106.
- Colomer-Rocher, F., P. Morand-Fehr, and A. H. Kirton. 1987. Standard methods and procedures for goat carcass evaluation, jointing and tissue separation. *Livest. Prod. Sci.* 17:149–159.
- Dansfield, E., J. C. Casey, R. Boccard, C. Touraille, and L. Buchter, D. E. Hood. 1983. Comparison of chemical composition of meat determined at eight laboratories. *Meat Sci.* 8:79-92.
- Demeyer, D., and M. Doreau. 1999. Targets and procedures for altering ruminant meat and milk lipids. *Proc Nutr Soc.* 58:593–607.
- Dhanda, J. S., D. G. Taylor, and P. J. Murray. 2003. Part1. Growth, carcass and meat quality parameters of male goats: effects of genotype and liveweight at slaughter. *Small Rumin. Res.* 50:57–66.
- Díaz, M.T., V. Cañeque, C.I. Sánchez, S. Lauzurica, C. Pérez, C. Fernández, I. Álvarez, and J. De la Fuente. 2011. Nutritional and sensory aspects of light lamb meat

- enriched in n<sub>3</sub> fatty acids during refrigerated storage. *Food Chem.* 124:147–155.
- Din, N, D. E. Newby, and A. D. Flapan. 2004. Omega 3 fatty acids and cardiovascular disease—fishing for a natural treatment. *BMJ* 328:30–35.
- Dyerberg J, H.O. Bang, and N. Hjorne. 1975. Fatty acid composition of the plasma lipids in Greenland Eskimos. *Am J Clin. Nutr.* 28:958-966.
- EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition, and Allergies (NDA). 2010. Scientific Opinion on Dietary Reference Values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids, and cholesterol. *EFSA J.* 8:1461-1568.
- Folch, J., M. Lees, and G.H. Sloane-Stanley. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 193:265-275.
- Granados, M. V. 2000. Influencia del genotipo y la dieta sobre la calidad de la canal y de la carne porcina. Efecto de a-tocoferol acetato sobre la estabilidad a la oxidación de la carne. PhD Diss. Universidad de Murcia.
- Grau, R., and R. Hamm. 1953. Eine einfache methode zur bestimmung der wasserbindung in muskel. *Naturwissenschaften* 40:29-30.
- Hernández-Castellano, L. E.. 2010. Estudio Comparativo de la Calidad de la Canal y de la Carne de Ovino de Raza Palmera y Ovino Comercializado en Canarias. tesina de grado. Arucas, Spain.
- Hill, F. 1966. The solubility of intramuscular collagen in meat animals of various ages. *J. Food Sci.*, 31:161-166.
- Kalogeropoulos, N., A. Chiou, E. Gavala, M. Christea, and N. K. Andrikopoulos. 2010. Nutritional evaluation and bioactive microconstituents (carotenoids, tocopherols,

- sterols and squalene) of raw and roasted chicken fed on DHA-rich microalgae. *Food Res. Inter.* 43:2006-2013.
- Kehui, O., X. Mingsheng, S. Xinchun, J. Yan and W. Wenjun. 2011. Influence of oils on the Taihe Silky Fowl production performances and fatty acids composition of the meat. *J Anim Physiol Anim Nutr* . 95:106–113.
- Kouba, M., and J. Mouro. 2011. A review of nutritional effects on fat composition of animal products with special emphasis on n-3 polyunsaturated fatty acids. *Biochimie* 93:13-17.
- Kris-Etherton PM, D. S. Taylor, and S. Yu-Poth, P. Huth , K. Moriarty , V. Fishell , R.L. Hargrove , G. Zhao, and T.D. Etherton. 2000. Polyunsaturated fatty acids in the food chain in the United States. *Am J Clin Nutr.* 71:179-188.
- J.H. Lee, J.H., G. Kannan, K .R. Eega, B. Kouakou, and W. R. Getz. 2008. Nutritional and quality characteristics of meat from goats and lambs finished under identical dietary regime. *Small Rumin. Res.* 74:255–259.
- Lewis, G. S., M. C. Wulster-Radcliff, and J. H. Herbein. 2008. Fatty acid profiles, growth, and immune responses of neonatal lambs fed milk replacer and supplemented with fish oil or safflower oil. *Small Rumin. Res.* 79:167–173.
- López-Ferrer, S., M. D. Baucells, A. C. Barroeta, and M. A. Grashorn. 2001. n-3 Enrichment of Chicken Meat. 1. Use of Very Long-Chain Fatty Acids in Chicken Diets and Their Influence on Meat Quality: Fish Oil. *Poultry Sci.* 80:741–752.
- Manso, T., R. Bodas, T. Castro, V. Jimeno, and A. R. Mantecon. 2009. Animal performance and fatty acid composition of lambs fed with different vegetable oils. *Meat Sci.* 83:511–516.

- Marichal, A., N. Castro, J. Capote, M. J. Zamorano and A. Argüello. 2003. Effects of live weight at slaughter (6, 10 and 25 kg) on kid carcass and meat quality. *Livestock Prod. Sci.* 83:247–256.
- Marinova P., V. Banskalieva and V. Tzvetkova. 2005. Body and carcass composition, and meat quality of kids fed fish oil supplemented diet. *Options Méditerranèennes A* 67:151–156.
- Marra, M. V., and A. P. Boyar. 2009. Position of the American Dietetic Association: nutrient supplementation. *J Am Diet Assoc.* 109:2073-2085.
- Matheswaran, K., G. D. Raj, and K. Nachimuthu. 2003. Demonstration of Alternative and Classical Complement Pathway Activity in Colostrum from Buffalo (*Bubalus bubalis*). *Vet Res Commun.* 27:445-452.
- Morales-delaNuez, A., N. Castro, I. Moreno-Indias, M. C. Juste, D. Sánchez-Macías, H. Briggsa, J. Capote, and A. Argüello. 2009. Effects of a reputed immunostimulant on the innate immune system of goat kids. *Small Rumin. Res.* 85:23–26.
- Muchenje, V., K. Dzama, M. Chimonyo, P. E. Strydom, A. Hugo, and J. G Raats,. 2009. Some biochemical aspects pertaining to beef eating quality and consumer health: A review. *Food Chem.* 112:279–289.
- Navarro, M. C. G, E. Ramos Morales, G. De la Torre Adarve, J.R. Fernández Navarro, M. Rodríguez Osorio, F. Gil Extremera and M. R. Sanz Sampelayo. 2008. Growth of Pre-ruminant Kid Goats and the Composition of Carcass Fat Deposits: Effects of Providing a PUFA-rich Fat in the Milk Replacer and Influence of the Kidding Season. *Food Sci. Techn. Int.* 14:85-94.
- Oswald, I. P., F. Lantier, and G. Bourgy, 1990. Classical and alternative pathway haemolytic activities of ovine complement: variations with age and sex. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 24:259–266.

- Ott, R. L., and M. Longnecker. 2001. *An Introduction to Statistical Methods and Data Analysis*, 5th edition. Duxbury Press, Pacific Grove, CA.
- Pearson, A. M., J. D. Love, and F. B. Shorland. 1977. A review over flavor in meat, poultry, and fish. *Adv. Food Res.* 23:1-4.
- Peña, F., J. Perea, A. García, and R. Acero. 2007. Effects of weight at slaughter and sex on the carcass characteristics of Florida suckling kids. *Meat Sci.* 75:543–550.
- Ripoll, G., M. J. Alcalde, A. Horcada, and B. Panea. 2011. Suckling kid breed and slaughter weight discrimination using muscle colour and visible reflectance. *Meat Sci.* 87:151–156.
- Rodríguez, C., N. Castro, J. Capote, A. Morales-de la Nuez, I. Moreno-Indias, D. Sánchez-Macías and A. Argüello. 2008. Effect of colostrum immunoglobulin concentration on immunity in Majorera goat kids. *J. Dairy Sci.* 92:1696–1701.
- Santos, V. A. C., S. R. Silva and J. M. T. Azevedo. 2008. Carcass composition and meat quality of equally mature kids and lambs. *J Anim Sci.* 86:1943-1950.
- Sanz Sampelayo, M. R., L. Allegretti, F. Gil Extremera and J. Boza. 2003. Growth, body composition and energy utilization in pre-ruminant goat kids Effect of dry matter concentration in the milk replacer and animal age. *Small Rumin. Res.* 49:61–67.
- Sanz Sampelayo, M. R., J. R. Fernández, E. Ramos, R. Hermoso, F. Gil Extremera and J. Boza. 2006. Effect of providing a polyunsaturated fatty acid-rich protected fat to lactating goats on growth and body composition of suckling goat kids. *Animal Sci.* 82:337–344.
- Sierra, I. 1973. Aportación al estudio del cruce Blanco Belga Landrace. *IEPGE*, 16: 43.
- Ulbricht, T. L. V. and D. A. T. Southgate. 1991. Coronary heart disease: seven dietary factors. *The lancet* 338:985-992.



- Venugopal, G., G. C. Ram, and M. P. Bansal. 1992. Determination of optimal in vitro conditions for caprine alternative complement pathway assay. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 32:359-364.
- Yakan, A., and Ü. Necmettin. 2010. Meat production traits of a new sheep breed called Bafra in Turkey 2. Meat quality characteristics of lambs. *Trop Anim Health Prod.* 42:743–750.
- Yeom K. H., G. Van Trierum, A. Hache, K. W. Lee and A. C. Beynen. 2002. Effect of protein: energy ratio in milk replacers on growth performance of goat kids. *J. Anim. Physiol. a. Anim. Nutr.* 86:137–143.

Table 1. Goat kid growth and carcass characteristics.

	Diet			SEM
	GM	CM	CM-DHA	
ADG (kg/d)	0.143	0.146	0.130	0.004
Food efficiency ratio [milk replacer (kg)/BW gain (kg)]	0.66 <sup>a</sup>	0.59 <sup>a</sup>	0.74 <sup>b</sup>	0.01
LWS (kg)	8.05	8.07	8.08	0.04
HCW (kg)	4.29	4.33	4.32	0.05
CCW (kg)	4.15	4.16	4.17	0.04
NWS (kg)	7.65	7.72	7.73	0.03
NCY (%)	56.17	56.07	55.91	0.45
CCY (%)	51.57	51.61	51.58	0.41
Chilling losses (%)	3.41	3.77	3.54	0.18
Carcass compactness	95.99	95.11	95.69	1.26
Long leg compact index 1	41.9	40.17	40.72	0.54
Long leg compact index 2	133.86	132.97	126.42	1.83
<b>TISSUE DISTRIBUTION</b>				
Left shoulder (kg)	0.41	0.42	0.40	0.06
Muscle (%)	61.17	60.34	60.52	0.35
Bone (%)	30.57	31.58	32.16	0.39
Subcutaneous fat (%)	1.39	1.32	1.33	0.07
Intermuscular fat (%)	2.77	2.32	2.29	0.17
Waste (%)	2.80	3.26	2.51	0.16

GM: goat's milk; CM: cow's milk; CM-DHA: cow's milk plus DHA-Gold® (DHA-

Gold®, Martek Biosciences, Columbia, MD, USA); LWS: live weight at slaughter;

CCW: cold carcass weight; NWS: net weight at slaughter; NCY: net carcass yield;

CCY: commercial carcass yield. Carcass compactness is CCW/carcass length (L). Long

leg compact index 1 is width between hips (G)/leg length (F); Long leg compact index 2

is hip perimeter (B)/leg length (F).

<sup>a,b</sup>Within a row, means without a common superscript differ ( $P < 0.05$ ).

Table 2. Goat kid meat characteristics.

	Diet			SEM
	GM	CM	CM-DHA	
pH 0	6.12	6.11	6.21	0.07
pH 24	5.65	5.59	5.65	0.03
L* 0 (lightness)	58.81	56.22	57.64	0.89
a* 0 (redness)	6.58	7.29	8.56	0.47
b* 0 (yellowness)	0.82	0.72	1.74	0.29
Croma 0	1.53	1.96	2.29	0.48
HUE 0	126.04	3.62	5.93	19.02
L* 24 (lightness)	59.00	62.30	61.59	1.33
a* 24 (redness)	4.82	4.69	4.82	0.28
b* 24 (yellowness)	4.82	4.69	4.82	0.28
Croma 24	2.46	2.71	2.45	0.57
HUE 24	8.10	22.56	4.67	3.39
Moisture (%)	76.44	77.03	76.81	0.12
Protein (%)	19.97	19.52	19.67	0.11
Intramuscular fat (%)	1.12	0.97	0.95	0.05
Ash (%)	0.82	0.81	0.82	0.03
µg HPRO (total collagen)	125.35	119.96	125.02	2.94
µg HPRO (soluble collagen)	59.37	47.63	55.67	3.44
Ratio soluble/total collagen (%)	47.05	39.41	44.57	2.19
WHC (%)	23.50	24.67	22.67	0.54
Cooking loss (%)	33.45	34.66	33.35	0.34
Tenderness	45.18	43.28	46.35	1.93

GM: goat's milk; CM: cow's milk; CM-DHA: cow's milk plus DHA-Gold® (DHA-

Gold®, Martek Biosciences, Columbia, MD, USA); WHC: water holding capacity.

Table 3. Fatty acid profile (%) of the intramuscular fat depot in goat kids.

	Diet			SEM
	GM	CM	CM-DHA	
C6:0	0.003	0.010	0.004	0.001
C8:0	0.007	0.001	0.000	0.000
C10:0	0.079 <sup>a</sup>	0.003 <sup>b</sup>	0.024 <sup>a,b</sup>	0.011
C11:0	0.086	0.006	0.004	0.002
C12:0	0.392 <sup>a</sup>	0.062 <sup>b</sup>	0.225 <sup>a,b</sup>	0.040
C13:0	3.787	4.818	0.915	0.354
C14:0	4.069 <sup>a</sup>	2.715 <sup>b</sup>	3.443 <sup>a,b</sup>	0.212
C14:1	0.248 <sup>b</sup>	0.356 <sup>a,b</sup>	0.411 <sup>a</sup>	0.022
C15:0	0.390	0.359	0.330	0.022
C15:1	0.175 <sup>a</sup>	0.115 <sup>b</sup>	0.115 <sup>b</sup>	0.008
C16:0	26.117	21.878	24.512	0.831
C16:1	1.609	2.062	1.650	0.133
C16:2	0.603 <sup>a</sup>	0.484 <sup>b</sup>	0.485 <sup>b</sup>	0.031
C16:3	0.612	0.563	0.425	0.026
C17:1	0.012 <sup>a</sup>	0.003 <sup>b</sup>	0.004 <sup>b</sup>	0.001
C16:4	0.004	0.004	0.004	0.001
C18:0	13.374	12.036	12.022	0.501
C18:1n9t	0.173	0.424	0.373	0.056
C18:1n9c	27.358	36.273	30.391	1.879
C18:2n6t	0.296	0.297	0.263	0.027
C18:2n6c	11.774 <sup>a</sup>	8.413 <sup>b</sup>	6.392 <sup>b</sup>	0.667
C18:3n6	0.143	0.110	0.126	0.011
C18:3n3	1.021	0.940	0.660	0.154
C20:0	0.265 <sup>a</sup>	0.346 <sup>b</sup>	0.458 <sup>b</sup>	0.028
C18:4n3	0.136	0.099	0.063	0.015
C20:1	0.021	0.036	0.008	0.014
C20:3n6	1.265	1.395	0.502	0.222
C22:0	0.541	0.769	0.639	0.138
C20:4n6	0.055 <sup>c</sup>	0.118 <sup>b</sup>	0.197 <sup>a</sup>	0.015
C20:5n3	1.359 <sup>b</sup>	1.462 <sup>b</sup>	4.338 <sup>a</sup>	0.362
C22:2	0.004	0.059	0.001	0.012
C23:0	0.576	0.530	0.329	0.141
C24:0	0.184 <sup>b</sup>	0.258 <sup>b</sup>	2.115 <sup>a</sup>	0.222
C24:4n6	2.524	2.243	1.294	0.268
C22:6n3	0.736 <sup>b</sup>	0.766 <sup>b</sup>	3.779 <sup>a</sup>	0.357
SFA	49.784	43.780	48.019	1.315
MUFA	29.595	39.268	33.452	1.957
PUFA	20.617	16.894	18.528	0.818
Omega-3	3.252 <sup>b</sup>	3.266 <sup>b</sup>	8.840 <sup>a</sup>	0.678
Omega-6	16.057 <sup>a</sup>	12.576 <sup>a,b</sup>	8.773 <sup>b</sup>	0.911
Ratio n6/n3	4.958 <sup>a</sup>	3.849 <sup>b</sup>	1.000 <sup>c</sup>	0.410
AI	0.909	0.586	0.745	0.063

GM: goat's milk; CM: cow's milk; CM-DHA: cow's milk plus DHA-Gold® (DHA-Gold®, Martek Biosciences, Columbia, MD, USA); AI: Atherogenic Index.

<sup>a-c</sup>Within a row, means without a common superscript differ ( $P < 0.05$ ).

Table 4. Fatty acid profile (%) of the peri-renal fat depot in goat kids.

	Diet			SEM
	GM	CM	CM-DHA	
C6:0	0.006	0.007	0.003	0.001
C8:0	0.000	0.000	0.000	0.000
C10:0	0.491 <sup>a</sup>	0.200 <sup>b</sup>	0.195 <sup>b</sup>	0.038
C11:0	0.018	0.009	0.001	0.003
C12:0	1.211 <sup>a</sup>	0.726 <sup>b</sup>	1.001 <sup>a,b</sup>	0.064
C13:0	0.707	0.637	0.984	0.080
C14:0	10.060 <sup>a</sup>	8.381 <sup>b</sup>	9.495 <sup>a,b</sup>	0.264
C14:1	0.131 <sup>b</sup>	0.725 <sup>a</sup>	0.602 <sup>a</sup>	0.075
C15:0	0.721	0.675	0.762	0.027
C15:1	0.257 <sup>a</sup>	0.195 <sup>b</sup>	0.191 <sup>b</sup>	0.008
C16:0	34.338	32.328	34.721	0.522
C16:1	1.143	1.621	1.359	0.163
C16:2	1.130 <sup>a</sup>	0.913 <sup>b</sup>	0.862 <sup>b</sup>	0.031
C16:3	0.458	0.394	0.377	0.013
C17:1	0.01 <sup>a</sup>	0.004 <sup>b</sup>	0.004 <sup>b</sup>	0.001
C16:4	0.007	0.007	0.006	0.001
C18:0	16.902	19.047	17.214	0.509
C18:1n9t	0.177	0.607	0.549	0.159
C18:1n9c	29.167	30.47	26.958	0.520
C18:2n6t	0.232	0.280	0.249	0.018
C18:2n6c	1.788	1.429	1.48	0.143
C18:3n6	0.100	0.113	0.123	0.007
C18:3n3	0.320	0.238	0.278	0.011
C20:0	0.220 <sup>a</sup>	0.555 <sup>b</sup>	0.441 <sup>b</sup>	0.045
C18:4n3	0.060	0.097	0.079	0.006
C20:1	0.005	0.009	0.006	0.001
C20:3n6	0.021	0.017	0.014	0.001
C22:0	0.016	0.036	0.047	0.015
C20:4n6	0.002 <sup>a</sup>	0.008 <sup>a</sup>	0.040 <sup>b</sup>	0.005
C20:5n3	0.011 <sup>b</sup>	0.014 <sup>b</sup>	0.144 <sup>a</sup>	0.019
C22:2	0.042	0.040	0.057	0.008
C23:0	0.051	0.063	0.060	0.008
C24:0	0.030 <sup>a</sup>	0.030 <sup>a</sup>	0.428 <sup>b</sup>	0.050
C24:4n6	0.121	0.084	0.221	0.116
C22:6n3	0.047 <sup>b</sup>	0.047 <sup>b</sup>	1.049 <sup>a</sup>	0.127
SFA	64,773	62,693	65,353	0,482
MUFA	30,891 <sup>a</sup>	33,631 <sup>a</sup>	29,669 <sup>b</sup>	0,57
PUFA	4,295 <sup>b</sup>	3,636 <sup>c</sup>	4,921 <sup>a</sup>	0,144
Omega-3	0,437 <sup>b</sup>	0,39 <sup>b</sup>	1,549 <sup>a</sup>	0,144
Omega-6	2,263 <sup>a</sup>	1,932 <sup>b</sup>	2,126 <sup>a,b</sup>	0,046
Ratio n6/n3	5,193 <sup>a</sup>	4,97 <sup>a</sup>	1,452 <sup>b</sup>	0,443
AI	2.165	1.791	2.140	0.068

GM: goat's milk; CM: cow's milk; CM-DHA: cow's milk plus DHA-Gold® (DHA-Gold®, Martek Biosciences, Columbia, MD, USA); AI: Atherogenic Index.

<sup>a-c</sup>Within a row, means without a common superscript differ ( $P < 0.05$ ).

Table 5. Fatty acid profile (%) of the pelvic fat depot in goat kids.

	Diet			SEM
	GM	CM	CM-DHA	
C6:0	0.004	0.005	0.006	0.001
C8:0	0.000	0.000	0.000	0.000
C10:0	0.350 <sup>a</sup>	0.148 <sup>b</sup>	0.164 <sup>a,b</sup>	0.040
C11:0	0.013	0.002	0.001	0.002
C12:0	1.617 <sup>a</sup>	0.655 <sup>b</sup>	0.909 <sup>a,b</sup>	0.177
C13:0	1.087	0.926	1.374	0.102
C14:0	9.653 <sup>a</sup>	8.064 <sup>b</sup>	8.897 <sup>a,b</sup>	0.246
C14:1	0.140 <sup>b</sup>	0.586 <sup>a</sup>	0.698 <sup>a</sup>	0.077
C15:0	0.625	0.700	0.711	0.090
C15:1	0.219 <sup>a</sup>	0.189 <sup>b</sup>	0.177 <sup>b</sup>	0.011
C16:0	32.709	31.488	33.200	0.523
C16:1	1.095	1.486	1.297	0.149
C16:2	0.974 <sup>a</sup>	0.884 <sup>b</sup>	0.809 <sup>b</sup>	0.029
C16:3	0.443	0.430	0.354	0.021
C17:1	0.008 <sup>a</sup>	0.004 <sup>b</sup>	0.003 <sup>b</sup>	0.001
C16:4	0.009	0.008	2.467	0.922
C18:0	15.059	18.220	16.285	0.570
C18:1n9t	0.157	0.463	0.551	0.063
C18:1n9c	31.309	32.542	27.403	0.780
C18:2n6t	0.222	0.271	0.204	0.028
C18:2n6c	2.236	1.445	1.454	0.169
C18:3n6	0.087	0.104	0.102	0.011
C18:3n3	0.272	0.195	0.232	0.030
C20:0	0.239 <sup>a</sup>	0.544 <sup>b</sup>	0.480 <sup>b</sup>	0.037
C18:4n3	0.069	0.088	0.078	0.004
C20:1	0.015	0.009	0.012	0.002
C20:3n6	0.058	0.034	0.034	0.007
C22:0	0.03	0.032	0.047	0.006
C20:4n6	0.001 <sup>a</sup>	0.002 <sup>a</sup>	0.041 <sup>b</sup>	0.006
C20:5n3	0.084	0.014	0.181	0.029
C22:2	0.116	0.028	0.043	0.021
C23:0	0.089	0.175	0.092	0.041
C24:0	0.258 <sup>a</sup>	0.070 <sup>a</sup>	0.409 <sup>b</sup>	0.072
C24:4n6	0.195	0.155	0.231	0.029
C22:6n3	0.560 <sup>a</sup>	0.046 <sup>a</sup>	1.050 <sup>b</sup>	0.186
SFA	61.733	61.019	62.578	0.677
MUFA	32.942	35.278	30.142	0.769
PUFA	5.209	3.675	7.236	0.97
Omega-3	0.986 <sup>a,b</sup>	0.343 <sup>b</sup>	1.541 <sup>a</sup>	0.203
Omega-6	2.798	2.011	2.065	0.163
Ratio n6/n3	4.331 <sup>a,b</sup>	7.529 <sup>a</sup>	1.407 <sup>b</sup>	1.008
AI	1.918	1.654	1.894	0.064



GM: goat's milk; CM: cow's milk; CM-DHA: cow's milk plus DHA-Gold® (DHA-Gold®, Martek Biosciences, Columbia, MD, USA); AI: Atherogenic Index.

<sup>a-c</sup>Within a row, means without a common superscript differ ( $P < 0.05$ ).

Table 6. Fatty acid profile (%) of the subcutaneous fat depot in goat kids.

	Diet			SEM
	GM	CM	CM-DHA	
C6:0	0.002	0.003	0.003	0.000
C8:0	0.000	0.000	0.000	0.000
C10:0	0.132 <sup>a</sup>	0.043 <sup>b</sup>	0.076 <sup>a,b</sup>	0.018
C11:0	0.006	0.004	0.001	0.001
C12:0	0.879 <sup>a</sup>	0.380 <sup>b</sup>	0.543 <sup>a,b</sup>	0.076
C13:0	2.870	1.763	1.385	0.266
C14:0	9.338 <sup>a</sup>	7.190 <sup>b</sup>	7.508 <sup>a,b</sup>	0.384
C14:1	0.394 <sup>b</sup>	0.888 <sup>a</sup>	0.403 <sup>b</sup>	0.086
C15:0	0.830	0.666	0.637	0.026
C15:1	0.274 <sup>a</sup>	0.212 <sup>b</sup>	0.203 <sup>b</sup>	0.002
C16:0	31.278	28.412	31.214	0.600
C16:1	2.872	3.477	3.096	0.222
C16:2	0.981 <sup>a</sup>	0.807 <sup>b</sup>	0.794 <sup>b</sup>	0.035
C16:3	0.740	0.688	0.654	0.077
C17:1	0.013 <sup>a</sup>	0.004 <sup>b</sup>	0.004 <sup>b</sup>	0.001
C16:4	0.012	0.006	0.010	0.001
C18:0	7.660	11.388	9.691	0.423
C18:1n9t	0.116	0.332	0.452	0.070
C18:1n9c	38.478	40.366	38.097	0.953
C18:2n6t	0.251	0.373	0.314	0.115
C18:2n6c	1.799	1.412	1.417	0.151
C18:3n6	0.119	0.145	0.133	0.004
C18:3n3	0.315	0.247	0.266	0.019
C20:0	0.241 <sup>a</sup>	0.693 <sup>b</sup>	0.628 <sup>b</sup>	0.052
C18:4n3	0.046	0.092	0.061	0.016
C20:1	0.004	0.012	0.009	0.002
C20:3n6	0.020	0.016	0.017	0.001
C22:0	0.015	0.030	0.055	0.015
C20:4n6	0.001	0.005	0.026	0.005
C20:5n3	0.009 <sup>b</sup>	0.019 <sup>b</sup>	0.234 <sup>a</sup>	0.031
C22:2	0.016	0.062	0.008	0.015
C23:0	0.089	0.051	0.025	0.014
C24:0	0.024 <sup>a</sup>	0.043 <sup>a</sup>	0.433 <sup>b</sup>	0.057
C24:4n6	0.121	0.109	0.237	0.119
C22:6n3	0.059 <sup>b</sup>	0.064 <sup>b</sup>	1.367 <sup>a</sup>	0.188
SFA	53.361	50.664	52.199	0.962
MUFA	42.150	45.29	42.264	1.001
PUFA	4.474 <sup>b</sup>	3.984 <sup>b</sup>	5.529 <sup>a</sup>	0.210
Omega-3	0.430 <sup>b</sup>	0.422 <sup>b</sup>	1.928 <sup>a</sup>	0.217
Omega-6	3.311	2.060	2.142	0.095
Ratio n6/n3	5.417 <sup>a</sup>	4.889 <sup>a</sup>	1.523 <sup>b</sup>	0.498
AI	1.496	1.180	1.321	0.066

GM: goat's milk; CM: cow's milk; CM-DHA: cow's milk plus DHA-Gold® (DHA-Gold®, Martek Biosciences, Columbia, MD, USA); AI: Atherogenic Index.

<sup>a-c</sup>Within a row, means without a common superscript differ ( $P < 0.05$ ).

Table 7. Fatty acid profile (%) of the intermuscular fat depot in goat kids.

FA	Diet			SEM
	GM	CM	CM-DHA	
C6:0	0.004	0.004	0.003	0.001
C8:0	0.002	0.000	0.000	0.000
C10:0	0.272 <sup>a</sup>	0.079 <sup>b</sup>	0.115 <sup>b</sup>	0.029
C11:0	0.010	0.007	0.005	0.002
C12:0	0.952 <sup>a</sup>	0.456 <sup>b</sup>	0.742 <sup>a,b</sup>	0.097
C13:0	2.463	2.147	1.876	0.212
C14:0	9.736 <sup>a</sup>	7.863 <sup>b</sup>	8.539 <sup>a,b</sup>	0.280
C14:1	0.380 <sup>b</sup>	0.721 <sup>a,b</sup>	0.873 <sup>a</sup>	0.072
C15:0	0.754	0.789	0.680	0.031
C15:1	0.252 <sup>a</sup>	0.207 <sup>b</sup>	0.179 <sup>b</sup>	0.008
C16:0	32.098	29.296	31.549	0.471
C16:1	2.224	3.562	3.087	0.417
C16:2	0.949 <sup>a</sup>	0.771 <sup>b</sup>	0.737 <sup>b</sup>	0.025
C16:3	0.561	0.561	0.536	0.037
C17:1	0.011 <sup>a</sup>	0.005 <sup>b</sup>	0.004 <sup>b</sup>	0.001
C16:4	0.005	0.008	0.005	0.001
C18:0	0.954	12.512	10.547	0.373
C18:1n9t	0.145	0.603	0.545	0.097
C18:1n9c	35.36	36.917	34.547	0.671
C18:2n6t	0.233	0.326	0.320	0.023
C18:2n6c	1.541	1.461	1.520	0.091
C18:3n6	0.112	0.144	0.115	0.006
C18:3n3	0.273	0.247	0.284	0.019
C20:0	0.265 <sup>a</sup>	0.541 <sup>b</sup>	0.621 <sup>b</sup>	0.053
C18:4n3	0.046	0.084	0.063	0.016
C20:1	0.011	0.006	0.014	0.001
C20:3n6	0.018	0.012	0.013	0.002
C22:0	0.016	0.028	0.054	0.014
C20:4n6	0.001 <sup>a</sup>	0.002 <sup>a</sup>	0.016 <sup>b</sup>	0.003
C20:5n3	0.019 <sup>b</sup>	0.032 <sup>b</sup>	0.250 <sup>a</sup>	0.027
C22:2	0.020	0.101	0.012	0.021
C23:0	0.049	0.192	0.022	0.049
C24:0	0.045 <sup>b</sup>	0.135 <sup>b</sup>	0.460 <sup>a</sup>	0.054
C24:4n6	0.149	0.12	0.248	0.116
C22:6n3	0.068 <sup>b</sup>	0.063 <sup>b</sup>	1.418 <sup>a</sup>	0.161
SFA	57.620	54.049	55.214	0.814
MUFA	38.386	42.020	39.250	0.797
PUFA	3.974 <sup>b</sup>	3.820 <sup>b</sup>	5.525 <sup>a</sup>	0.214
Omega-3	0.407 <sup>b</sup>	0.426 <sup>b</sup>	2.014 <sup>a</sup>	0.191
Omega-6	2.052	2.064	2.232	0.096
Ratio n6/n3	7.114 <sup>a</sup>	4.857 <sup>a,b</sup>	1.158 <sup>b</sup>	1.069
AI	1.707 <sup>a</sup>	1.343 <sup>b</sup>	1.507 <sup>a,b</sup>	0.060

GM: goat's milk; CM: cow's milk; CM-DHA: cow's milk plus DHA-Gold® (DHA-Gold®, Martek Biosciences, Columbia, MD, USA); AI: Atherogenic Index.

<sup>a-c</sup>Within a row, means without a common superscript differ ( $P < 0.05$ ).

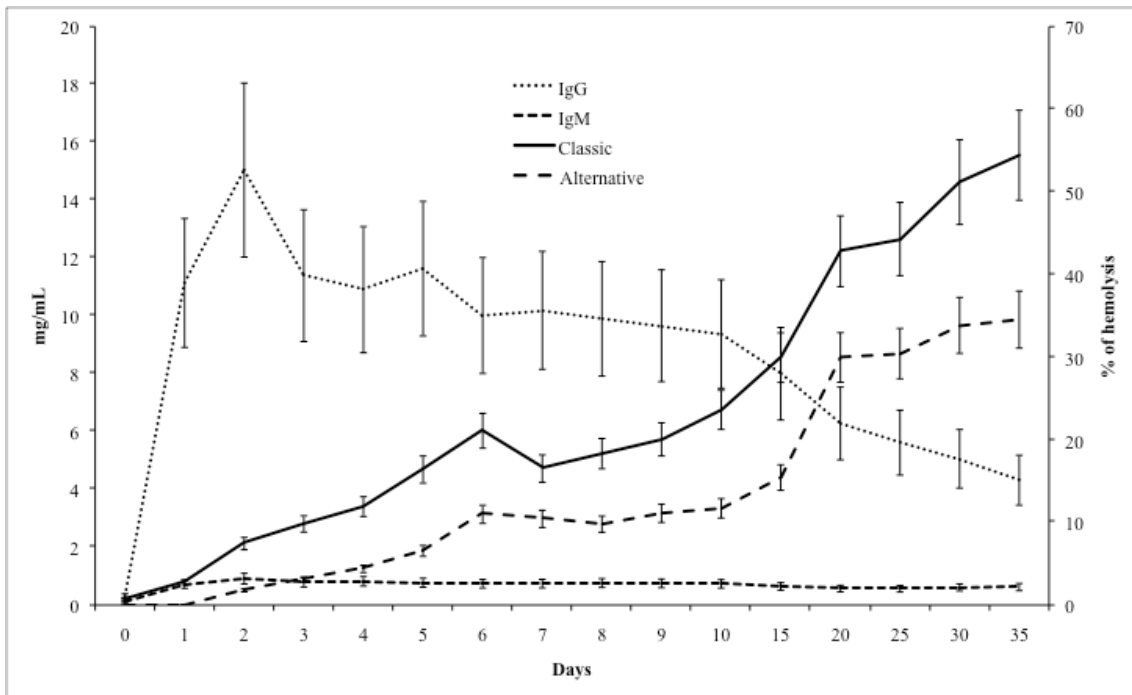


Figure 1. Changes in goat kid plasma IgG and IgM levels (left axis) and complement system activity by the classic and alternative pathways (right axis). Data in mean  $\pm$  SEM

**11. CAPÍTULO 5**

**The effect of omega-3 polyunsaturated fatty acid addition to milk replacer on the  
sensory quality of goat kid meat**

**The effect of omega-3 polyunsaturated fatty acid addition to milk replacer on the sensory quality of goat kid meat**

Isabel Moreno-Indias, Davinia Sánchez-Macías, Josué Martínez-de la Puente, Antonio Morales-delaNuez, Lorenzo Hernández-Castellano, Noemí Castro, Anastasio Argüello \*  
Animal Science Unit, Universidad de las Palmas de Gran Canaria, Arucas, 35413,  
Spain.

\* Corresponding author: phone: +34928451094, fax: +34928451142, email:  
aarguello@dpat.ulpgc.es



### **ABSTRACT**

To enhance the nutritional quality of meat, dietary strategies have been developed to manipulate the fatty acid profiles of muscle tissue. Fatty acids affect meat attributes, including hardness, colour and lipid stability, and flavour. Little research has been done, however, on the effects of dietary omega-3 polyunsaturated fatty acid (PUFA) supplementation on the sensory characteristics of meat. To address this issue, six diets were fed to goat kids: goat's milk, powdered whole cow's milk, powdered whole cow's milk plus docosahexaenoic acid (DHA) (low dose), milk replacer, milk replacer plus DHA (low dose), and milk replacer plus DHA (high dose). A descriptive, semi-trained sensory evaluation and a consumer triangular test were performed to analyse the resulting meat. High doses of omega-3 PUFA produced meat with unusual odours, unpleasant flavours, and low overall appreciation scores. Low doses of DHA maintained a positive sensory perception.

**Key words:** sensory evaluation, DHA, cow's milk, goat kid.

**1. Introduction**

To enhance the nutritional quality of meat, nutritional strategies have been developed to manipulate the fatty acid profile of muscle tissue (Wood et al., 2003). Among essential fatty acids, those enriched in marine oil products are particularly important for maintaining human health and alleviating certain pathological conditions (Moghadasian, 2008). Two dietary fatty acids, eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid (DHA), are critical for the optimal performance of multiple body systems; these fatty acids are primarily derived from fish oil and other marine food products (Moghadasian, 2008).

In ruminant meat, concentrations of polyunsaturated fatty acids (PUFA) are low because of biohydrogenation in the rumen (Wachira et al., 2002). Despite ruminal hydrogenation, several studies have indicated that dietary supplementation with n-3 fatty acids (popularly known as omega-3 fatty acids) modifies the fatty acid profile of meat and improves the meat's nutritional qualities (Raes, DeSmet, & Demeyer, 2004). Fatty acids in muscle tissue affect several aspects of meat quality, including hardness, colour and lipid stability, and flavour (Wood et al., 2003). In addition, PUFA are preferentially deposited in phospholipids, which are the primary determinants of a meat's flavour (Mottram & Edwards, 1983). As a result, changes to fatty acid profiles potentially have large effects on meat characteristics. The susceptibility of fatty acids to oxidation in tissues depends on the levels of unsaturated fatty acids and antioxidants (Gladine, Rock, Morand, Bauchart, & Durand, 2007).

Goat kids are pre-ruminant animals, as the rumen develops over time. They process food in an essentially mono-gastric fashion, and thus, the fatty acid composition of the diet affects the meat properties more directly than in adult goats (Yeom, Van Trierum, Hache, Lee, & Beynen, 2002). As a result, dietary manipulations affect

intramuscular n-3 fatty acid levels more efficiently in young animals (Raes et al., 2004). However, most studies examining n-3 PUFA supplementation have focused on meat from animals that are several weeks old (Nute et al., 2007; Radunz et al., 2009; Díaz et al., 2011), whereas newborn animals have received little attention. Also, despite an extensive body of literature that documents the effects of dietary n-3 on the fatty acid profiles of ruminant meats, there is very little information concerning the effects of n-3 supplementation on the sensory characteristics of meat. Only a few studies, such as Nute et al. (2007) in lambs and Díaz et al. (2011) in goat kids, have reported odour and flavour data. In these cases, both fishy and rancid were used to describe the meat's odour and flavour, characteristics that only increased with storage.

Powdered whole cow's milk could be an inexpensive alternative (under certain circumstances) feed source that is fed to a wide variety of livestock and that may result in improved artificial rearing. To our knowledge, the effect of cow's milk on the sensory characteristics of goat kid meat has not been examined.

The aim of our study was to characterise the sensory changes to goat kid meat that result from n-3 PUFA supplementation and powdered cow's milk. In addition, a consumer triangular test was used to determine if consumers could discriminate between meats derived from different diets. In particular, it was important to determine whether consumers could detect n-3 PUFA supplementation, which often results in unpleasant odours and flavours.

## **2. Material and methods**

### *2.1. Animals, diets, and sampling*

This study was conducted on the experimental farm of the Veterinarian Faculty of Universidad de Las Palmas de Gran Canaria (Aruca, Spain), and the experimental procedures were approved by the Ethical Committee of this University. Sixty Majorera

goat kids (males and females) were separated from their mothers at birth, dried, and their umbilical cords disinfected. They were weighed and randomly assigned to one of six experimental groups. Kids were bottle-fed pooled colostrum that was prepared pre-partum, according to Castro, Capote, Álvarez, and Argüello (2005). After the fourth feeding, kids began receiving their experimental diets. All diets (except for goat milk) consisted of 16% (w/w) dry matter (DM). The six diets were: 1) goat's milk (GM) from the farm; 2) cow's milk (CM) derived from powdered whole cow's milk; 3) commercial milk replacer (MR) (Bacilactol Cabritos, Saprogal, La Coruna, Spain; 95.5% DM, 23.6% crude protein, and 22.7% ether extract); 4) MR supplemented with a low dose of n-3 PUFA (DHA-gold©, Martek Biosciences, Columbia, MD, USA) (15.1% MR and 0.9% DHA) (MR-LD-DHA); 5) MR supplemented with a high dose of DHA (14.2% MR and 1.8% DHA) (MR-HD-DHA); and 6) CM supplemented with a low dose of n-3 PUFA (15.1% CM and 0.9% of DHA) (CM-LD-DHA). Goat kids were fed these diets until their body weight reached 8 kg, when they were slaughtered according to welfare practices.

After chilling, carcasses were split down the dorsal midline. The left and right sides were divided into five primary cuts (neck, flank, ribs, shoulder, and long-leg) and two minor cuts (kidney and tail), as described by Colomer-Rocher, Morand-Fehr, and Kirton (1987). *Quadriceps* and *longissimus dorsi* were dissected, vacuum packed, and stored at  $-18^{\circ}\text{C}$  until analysis.

### *2.2. Sensory evaluation*

#### *2.2.1. Preparation of the samples*

Before sensory evaluation, samples were thawed at  $4^{\circ}\text{C}$  over 24 h. *Quadriceps* and *longissimus dorsi* were used for semi-trained sensory evaluation and consumer sensory evaluation, respectively. After removing external fat and connective tissue, the

meat was cut into  $2 \times 2 \times 1 \text{ cm}^3$  pieces, wrapped in aluminium foil, and cooked on a pre-heated double hot-plate grill at  $200 \text{ }^\circ\text{C}$  for 1 min. Samples were immediately given to the taste panellists one at a time.

### *2.2.2. Semi-trained sensory evaluation*

Sensory evaluations were performed by a nine-member sensory panel at the Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, which frequently participates in meat sensory analyses. Although panel members were generally familiar with sensory analysis methods, training sessions were performed until all members of the panel were comfortable analysing the specific meat attributes that were critical to this study. Evaluations were based on quantitative descriptors in a completely balanced block. The panel evaluated ten attributes using a 10-cm unstructured line scale, with space reserved for supplementary remarks concerning each sample and parameter. A total of 36 samples (from 60 animals) were assessed in 12 sessions. The sensory analyses were performed in rooms that met norm ISO 8589:2010 specifications, including the absence of noise and odour, white walls, and adequate temperature and humidity levels. Each sample was placed on an odour-free serving plate with a three-digit random code and served to a panel member under red light. Panel members were provided unsalted breadsticks and room-temperature water to cleanse their palates between samples.

The semi-trained panel described ten meat attributes, which included overall odour, strange odour, tenderness, juiciness, fibrousnesses, overall flavour, rancid flavour, liver flavour, fat flavour, and overall appreciation (see Table 1). Resconi, Campo, Font I Furnols, Montossi, and Sañudo (2010) developed this list, but we replaced acid flavour with overall appreciation. We included this modification based on Resconi et al. (2010), who studied the effect of various finishing diets (i.e., different pasture-to-concentrate proportions) on the sensory qualities of beef. In addition, acid

flavour is primarily affected by maize feeding (Larick & Turner, 1990), which is not a variable in this study. Although many authors reject the overall appreciation category when using a trained sensory panel (Köster, 1990), this parameter has been extensively used in the past (Rodrigues & Teixeira, 2009) and functions to condense all sensory parameters into a single value.

### *2.2.3. Consumer triangular test*

Ninety-five untrained consumers, who were unaware of the experimental conditions, analysed 300 *longissimus dorsi* muscle samples from 36 animals. Samples were prepared in the same way as for the sensory evaluation (*Section 2.2.1*). Three chops (two from the same treatment condition and one from a different treatment) were presented to each person on a plate with a code, in accordance with Spanish guidelines (Norma UNE-EN ISO 4120:2004). Panellists received these samples in individual cabins under controlled environmental conditions and red light. Taking into account the limited meat available, at least six comparisons between each pair of treatments were performed. Moreover, panellists were invited to discriminate between samples and to indicate which attributes were most critical to their decision. Panel members were provided unsalted breadsticks and room-temperature water to cleanse their palates between samples.

### *2.3. Statistical analysis*

Generalised Procrustes analysis (GPA) was used to analyse the sensory data because it is a powerful multivariate technique and because it takes into account free-choice profiling. This statistical tool is used extensively in sensory evaluation (Gower, 1975; Rodrigues & Teixeira, 2009; Kor & Keskin, 2010). With this tool, problems typically encountered with sensory analysis (such as variation among panellists) can be

corrected for (Stone & Sidel, 1985). To generate consensus among panellists, GPA transforms the individual data matrices to allow for optimal comparability.

Triangular tests were analysed by consulting tables within the Norma UNE-EN ISO 4120, which dictates the number of correct replies that are necessary for a significant result (we assumed  $\alpha = 0.05$ ), given a particular number of panellists (at least six in our study). When the number of correct replies was greater than or equal to the value in the table, the “difference does not exist” hypothesis was rejected.

### **3. Results and discussion**

#### *3.1. Semi-trained sensory evaluation*

Translation ( $F = 5.899$ ;  $P < 0.001$ ) and scaling ( $F = 2.917$ ;  $P = 0.015$ ) contributed significantly to the transformation in this study. However, rotation did not have a significant effect ( $P > 0.05$ ).

A consensus was reached with an Rc factor ( $Rc = 0.251$ ). This value was larger than the 95<sup>th</sup> percentile of the sample distribution. Achieving this result with 500 permutations supported the concept that “...the consensus plot as given by the GPA most likely represents some true consensus among panellists regarding the relationships among the samples evaluated” (King & Arents, 1991). Panellist residuals were heterogeneous (Table 2). In addition, panellists 3 and 8 used a wider scale than the other panellists, a conclusion supported by the high scaling factors associated with these two panellists (Table 2). According to the residuals by objects, the highest consensus among panellists was reached for the MR-HD-DHA group, and the lowest consensus was reached for the MR-LD-DHA and MR diets (Table 3).

Two principal axes explained 78.601% of the total variation associated with the consensus. The first component explained 66.576% of the variance, and the second component explained 12.025%. Each of the remaining components explained <10% of

the total variance, and were therefore, not considered in subsequent analyses (Thomson & McEwan, 1988).

Table 4 shows the correlations between sensory attributes and the principal axes (F1 and F2). Juiciness, overall flavour, overall appreciation, strange odours, rancid flavour, and liver flavour were the attributes that contributed most to F1 (Table 4). Fat flavour was the attribute with the highest contribution to F2 (Table 4). The consensus configuration is shown in Fig. 1. Vectors associated with strange odours, rancid flavour, and liver flavour were directed toward negative F1 values, whereas overall flavour and overall appreciation were primarily directed toward positive F1 values. The juiciness vector also directed toward positive F1 values, but to a lesser degree. The fat flavour vector directed toward positive F2 values, whereas overall odour, fibrousnesses, and tenderness did not result in sufficient representation. We did not expect to measure textural parameter changes between the experimental diets. This is because previous researchers have supplemented lamb diets with various oils (including fish and marine algae oils), and no textural parameter changes were detected (Nute et al., 2007; Díaz et al., 2011). However, Vatansever et al. (2000) found that fish oil supplementation produced meat chops that were tougher. We found that fibrousness and tenderness were not affected by diet manipulation, but that the juiciness textural parameter was strongly affected. Juiciness was particularly affected by the GM and MR diets, which had the highest values for this parameter. This result is potentially due to a higher amount of water, which results in meat that is perceived as juicier (Bañón, Vila, Price, Ferrandini, & Garrido, 2006).

In our current study, lamb diets that were supplemented with high doses of n-3 PUFA (derived from algae sources) affected meat parameters related to odour and flavour. MR-HD-DHA was clearly separated from the other diets and was associated



with negative values in the strange odour, rancid flavour, and liver flavour attributes. This was not the case for the MR-LD-DHA diet, which received positive values for these attributes (similar to CM). Vatansever et al. (2000) demonstrated that supplementing cattle feed with fish oil makes the meat more rancid and fishy and diminishes the meat's beef flavour (the same attribute as overall flavour in this study). Instead, the meat tasted like liver and metal (but was not bitter), as we have found for goat kid meat. However, lower doses of DHA (MR-LD-DHA) did not affect the meat's taste and odour as negatively, indicating a dose-dependent effect. The amount of DHA-Gold® used in this experiment was relatively high in the MR-HD-DHA treatment (18 g of DHA per L of milk replacer, which represented 11.25% of the total DM). To date, most studies have used less marine algae or fish oil. Díaz et al. (2011) fed lambs 4% marine algae or 3.3% fish oil, whereas Radunz et al. (2009) used 3% marine algae. In addition, the animals used for these two studies were several weeks old when treatment began, whereas newborn kids were used in our current study. However, MR-LD-DHA contained 5.62% from an algae source and still produced positive results for these parameters.

The correlation between rancid flavour and MR-HD-DHA may have resulted from the high levels of PUFA in this diet. PUFA are less resistant to oxidation and lipid oxidation, resulting in rancid odours and flavours (Wood et al., 1999). Nute et al. (2007) found that lambs fed a fish-oil diet have a high proportion of C20:5n3 and C22:6n3 in their meat, which reduces the overall flavour impression and generally increases fishy flavour.

Another important result from our study is that the source of milk (to which the n-3 PUFA supplement was added) is relevant. Sensory analysis of CM-LD-DHA yielded generally negative impressions that were similar to MR-HD-DHA. In contrast,

MR-LD-DHA was more favourably judged, indicating that the cow's milk contributed to the unfavourable score of CM-LD-DHA. Although the main ingredient of MR is cow's milk, the fat source added to these milk replacers is usually derived from a plant (e.g., coconut fat). These alternative fat sources alter the meat's fatty acid composition (Rojas et al., 1994) and sensory perception.

Fat flavour is most accurately characterised by the second component of the GPA. The MR diet has the highest value for this parameter and is clearly the most influenced by this second component (Fig. 1). GM was also influenced by this component, but in a negative fashion. Meat derived from animals fed MR has been thoroughly studied, both in terms of chemical composition and sensory perception. Argüello, Castro, Capote, & Solomon (2005) found that Majorera goat kids fed either GM or MR have the same amount of intramuscular fat. However, Bañón et al. (2006) found that Murciano-Grandadina goat kids fed either GM or MR have dramatic differences in the sensory quality of cooked meat, as more intense odour and flavour characteristics of the meat emerged.

### *3.2. Consumer triangular test*

Applying Norma UNE-EN ISO 4120 criteria, no significant differences were found between any of the diet combinations (Table 5). According to these data, consumers cannot detect a difference between meat derived from animals fed GM, CM, or MR (with or without supplemental n-3 PUFA). Perhaps a greater number of tests per diet combination would have yielded statistically significant results, but the size of the goat kids (8 kg) prevented a larger analysis.

The aim of this test was to determine which of these meats would be acceptable in the marketplace if they were commercialised. Participants, therefore, were

completely untrained consumers who frequently ate goat kid meat. Test results suggest that all of these meats would be marketable.

This test did not provide any information concerning the sensory attributes that differentiated the diets, primarily because of the high number of attributes that were used for each comparison (data not shown).

#### **4. Conclusions**

Feeding goat kids a supplemental source of n-3 PUFA does not negatively affect the resulting meat's sensory quality. However, semi-trained panellists could detect an unfavourable difference when high doses of the supplement were used. In contrast, consumers did not detect any differences between these meat samples.

#### **Acknowledgments**

This study was financed by grant AGL2006-08444/GAN from Ministerio de Educación y Ciencia (Spanish Government). Special thanks to Martek Biosciences for donating the DHA-Gold® and to the panellists who altruistically participated in this study.

**References**

- Argüello, A., Castro, N., Capote, J., & Solomon, M. (2005). Effects of diet and live weight at slaughter on kid meat quality. *Meat Science*, *70*, 173–179.
- Bañón, R., Vila, A., Price, E., Ferrandini, M. D., & Garrido, E. (2006). Effects of goat milk or milk replacer diet on meat quality and fat composition of suckling goat kids. *Meat Science*, *72*, 216–221.
- Castro, N., Capote, J., Álvarez, S., & Argüello, A. (2005). Effects of Lyophilized Colostrum and Different Colostrum Feeding Regimens on Passive Transfer of Immunoglobulin G in Majorera Goat Kids. *Journal of Dairy Science*, *88*, 3650–3654.
- Colomer-Rocher, F., Morand-Fehr, P., & Kirton, A. H. (1987). Standard methods and procedures for goat carcass evaluation, jointing and tissue separation. *Livestock Production Science*, *17*, 149–159.
- Díaz, M. T., Cañeque, V., Sánchez, C. I., Lauzurica, S., Pérez, C., Fernández, C., Álvarez, I., & De la Fuente, J. (2011). Nutritional and sensory aspects of light lamb meat enriched in n-3 fatty acids during refrigerated storage. *Food Chemistry*, *124*, 147–155.
- Gallina, M. A., Palma, J. M., Pacheco, D., & Morales, R. (1995). Effect of goat milk, cow milk, cow milk replacer and partial substitution of the replacer mixture with whey on artificial feeding of female kids. *Small Ruminant Research*, *17*, 153–158.
- Gladine, C., Rock, E., Morand, C., Bauchart, D., & Durand D. (2007) Bioavailability and antioxidant capacity of plant extracts rich in polyphenols, given as a single acute dose, in sheep made highly susceptible to lipoperoxidation. *British Journal of Nutrition*, *98*, 691-701.

- Gower, J. C. (1975). Generalized Procrustes analysis. *Psychometrika*, 40, 33-51.
- ISO 8589. (2010). Sensory analysis. General guidance for the design of test rooms.
- King, B. M., & Arents, P. A. (1991). Statistical test of consensus obtained from generalized procrustes analysis of sensory data. *Journal of Sensory Studies*, 6, 37-48.
- Kor, A., & Keskin, S. (2011). Quality and Sensory Evaluation for Goat Meat Using Generalized Procrustes Analysis. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10, 1313-1316.
- Köster, E. P. (1990). L'organisation des épreuves hédoniques. In SSHA & ISHA (Eds.), *Évaluation sensorielle. Manuel méthodologique* (pp. 171-173). Paris: Technique & documentation Lavoisier-APRIA.
- Larick, D. K., & Turner, B. E. (1990). Flavor characteristics of forage and grain-fed beef as influenced by phospholipid and fatty acid compositional differences. *Journal of Food Science*, 55, 312–317
- Moghadasian, M. H. (2008). Advances in Dietary Enrichment with N-3 Fatty Acids. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48, 402–410.
- Mottram, D. S. & Edwards, R. A. (1983). The role of triglycerides and phospholipids in the aroma of cooked beef. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 34, 517-522.
- Mouchrek, E. & Moulin, C. H. S., (1989). FrecuenciaXconsumo diario no aleitamento artificial de caprinos. (Artificial feeding of goats: frequency X daily consumption.). *Cabra Bodes*, 4, 18-19.

- Nute, G. R., Richardson, R. I., Wood, J. D., Hughes, S. I., Wilkinson, R. G., Cooper, S. L., et al. (2007). Effect of dietary oil source on the flavour and the colour and lipid stability of lamb meat. *Meat Science*, 77, 547–555.
- Opstvedt, J. (1968). Foringa. (Feeding.) In: Geitehald. (Goatkeeping.) Oslo, 74-120.
- Radunz, A. E., Wickersham, L. A., Loerch, S. C., Fluharty, F. L., Reynolds, C. K., & Zerby, H. N. (2009). Effects of dietary polyunsaturated fatty acid supplementation on fatty acid composition in muscle and subcutaneous adipose tissue of lambs. *Journal of Animal Science*, 87, 4082-4091.
- Raes, K., DeSmet, S., & Demeyer, D. (2004). Effect of dietary fatty acids on incorporation of long chain polyunsaturated fatty acids and conjugated linoleic acid in lamb, beef and pork meat: a review. *Animal Feed Science and Technology*, 113, 199–221.
- Resconi, V.C., Campo, M.M., Font i Furnols, M., Montossi, F., Sañudo, C. (2010). Sensory quality of beef from different finishing diets. *Meat Science*, 86, 865–869.
- Rodrigues, S., & Teixeira, A. (2009). Effect of sex and carcass weight on sensory quality of goat meat of Cabrito Transmontano. *Journal of Animal Science*, 87, 711-715.
- Rojas, A., López-Bote, C., Rota, A., Martín, L., Rodríguez, P. L., & Tovar, J. J. (1994). Fatty acid composition of Verata goat kids fed either goat milk or commercial milk replacer. *Small Ruminant Research*, 14, 61–66.
- Stone, H., & Sidel, J. L. (1985). Sensory evaluation practices. Academic Press Inc., San Diego, CA.

- Thomson D. M. H. & McEwan J. A. (1988). An Application of the Repertory Grid Method to Investigate Consumer Perceptions of Foods. *Appetite*, 1988, 181-193.
- UNE-EN ISO 4120. (2004). Análisis sensorial. Metodología. Prueba triangular (ISO 4120:2004) Asociación Española de Normalización y Certificación (AENOR) Inc. Análisis sensorial.
- Vatansever, L., Kurt, E., Enser, M., Nute, G. R., Scollan, N. D., Wood, J. D., et al. (2000). Shelf life and eating quality of beef from cattle of different breeds given diets differing in n<sub>3</sub> polyunsaturated fatty acid composition. *Animal Science*, 71, 471–482.
- Wachira, A. M., Sinclair, L. A., Wilkinson, R. G., Enser, M., Wood, J. D. & Fisher, A. V. (2002). Effects of dietary fat source and breed on the carcass composition, n<sub>3</sub> polyunsaturated fatty acid and conjugated linoleic acid content of sheep meat and adipose tissue. *British Journal of Nutrition*, 88, 697-709.
- Wood, J. D., Enser, M., Fisher, A. V., Nute, G. R., Richardson, R. I., & Sheard, P. R. (1999). Manipulating meat quality and composition. *Proceedings of the Nutrition Society*, 58, 363–370.
- Wood, J. D., Richardson, R. I., Nute, G. R., Fisher, A. V., Campo, M. M., Kasapidou, E., Sheard, P. R., & Enser, M., (2003). Effects of fatty acids on meat quality: a review. *Meat Science*, 66, 21–32.
- Yeom, K. H., Van Trierum, G., Hache, A., Lee, K. W., & Beynen, A. C. (2002). Effect of protein: energy ratio in milk replacers on growth performance of goat kids. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 86, 137–143.

**Table 1**

Definitions of the descriptors used in the sensory analysis of goat kid meat, according to Resconi et al. (2010) with modifications.

<b>Descriptor</b>	<b>Definition</b>
Overall odour <sup>a</sup>	Odour intensity of cooked goat kid
Strange odour <sup>a</sup>	Intensity of abnormal odours
Tenderness <sup>b</sup>	Ease of chewing with the molars
Juiciness <sup>c</sup>	Liquid expelled by the sample during chewing
Fibrousness <sup>d</sup>	Amount of fibres perceived during chewing
Overall flavour <sup>a</sup>	Flavour intensity of cooked goat kid
Rancid flavour <sup>a</sup>	Flavour intensity of expired product
Liver flavour <sup>a</sup>	Flavour intensity of this organ
Fat flavour <sup>a</sup>	Flavour intensity of fat or oil
Overall appreciation	Final score summing all parameters

<sup>a</sup> 0 = not detected, whereas 100 = very intense.

<sup>b</sup> 0 = very tough, whereas 100 = very tender.

<sup>c</sup> 0 = very dry, whereas 100 = very juicy.

<sup>d</sup> 0 = very low, whereas 100 = very high.



**Table 2**

For each panellist, the residual variance, scaling factor, and the variation percentage that is explained by the first two principal components are shown.

Panellist	Residual	Scaling factor	F1	F2
1	2.950	0.617	53.963	11.099
2	2.399	0.974	62.544	8.634
3	2.194	2.357	78.668	6.532
4	4.414	0.874	48.181	32.262
5	5.682	0.822	71.040	7.629
6	3.285	1.286	84.908	3.194
7	5.081	0.932	78.086	2.875
8	4.338	2.549	50.667	14.922
9	2.350	1.362	60.110	24.946

F1: First principal component of the generalised Procrustes analysis (GPA); F2: Second principal component of the GPA.

**Table 3**

Residual variance for each diet.

<u>Diet</u>	<u>Diet residual</u>
GM	4.508
CM	5.289
MR	6.600
MR-LD-DHA	6.623
MR-HD-DHA	3.991
CM-LD-DHA	5.683

GM: goat's milk; CM: cow's milk; MR: commercial milk replacer; MR-LD-DHA: MR supplemented with a low dose of DHA; MR-HD-DHA: MR supplemented with a high dose of DHA; CM-LD-DHA: CM supplemented with a high dose of DHA.

**Table 4**

The correlation between sensory traits and factors produced in the generalised Procrustes analysis (GPA). In addition, the sensory scores (means  $\pm$  SEM) of goat kid meat associated with the indicated diets are shown.

Sensory trait	GPA			DIETS						
	F1	F2	GM	CM	MR	MR-HD-DHA	MR-LD-DHA	CM-LD-DHA		
Overall odour	0.339	0.633	5.04 $\pm$ 0.11	5.80 $\pm$ 0.37	5.75 $\pm$ 0.30	0.40	5.07 $\pm$ 2.33	4.99 $\pm$ 1.08	4.83 $\pm$ 0.33	
Strange odour	0.995	0.069	0.13	0.28	0.25	0.38	0.34	0.16	0.32	
Tenderness	0.604	0.408	0.37	0.23	0.25	0.34	0.16	0.16	0.24	
Juiciness	0.808	0.378	0.42	0.48	0.36	0.42	0.40	0.40	0.36	
Fibrousness	0.256	0.225	0.30	0.19	0.36	0.21	0.26	0.26	0.28	F1: First principal
Overall flavour	0.984	0.105	0.20	0.20	0.27	0.27	0.16	0.16	0.31	component of the
Rancid flavour	0.958	0.092	0.05	0.06	0.06	0.58	0.17	0.44 $\pm$ 0.70	0.21	GPA; F2: Second
Liver flavour	0.784	0.199	0.30	0.28	0.24	0.31	0.25	0.92 $\pm$ 0.73	0.31	principal
Fat flavour	0.357	0.849	0.63	0.70	0.75	0.79	0.63	1.26 $\pm$ 2.24	2.24 $\pm$ 0.78	component of the
Overall appreciation	0.977	0.188	0.25	0.26	0.26	0.48	0.27	6.71 $\pm$ 5.63	5.63 $\pm$ 0.35	GPA.

GM: goat's milk; CM: cow's milk; MR: commercial milk replacer; MR-LD-DHA: MR supplemented with a low dose of DHA; MR-HD-DHA: MR supplemented with a high dose of DHA; CM-LD-DHA: CM supplemented with a low dose of DHA; CM-HD-DHA: CM supplemented with a high dose of DHA.

**Table 5**

Sensory scores of triangular tests that compare goat kid meat derived from different diets (n = % of the total diet). Untrained consumers performed the tests.

	GM		CM		MR		MR-LD-DHA		MR-HD-DHA		CM-LD-DHA	
	CORRECT REPLIES	INCORRECT REPLIES	CORRECT REPLIES	INCORRECT REPLIES	CORRECT REPLIES	INCORRECT REPLIES	CORRECT REPLIES	INCORRECT REPLIES	CORRECT REPLIES	INCORRECT REPLIES	CORRECT REPLIES	INCORRECT REPLIES
GM			2 (25%)	6 (75%)	1 (16.67%)	5 (83.33%)	2 (33.33%)	4 (66.67%)	1 (16.67%)	5 (83.33%)	3 (50%)	3 (50%)
CM	2 (25%)	6 (75%)			2 (33.33%)	4 (66.67%)	3 (50%)	3 (50%)	2 (33.33%)	4 (66.67%)	4 (66.67%)	2 (33.33%)
MR	1 (16.67%)	5 (83.33%)	2 (33.33%)	4 (66.67%)			4 (57.14%)	3 (42.86%)	4 (57.14%)	3 (42.86%)	2 (33.33%)	4 (66.67%)
MR-LD-DHA	2 (33.33%)	4 (66.67%)	3 (50%)	3 (50%)	4 (57.14%)	3 (42.86%)			3 (42.86%)	4 (57.14%)	2 (33.33%)	4 (66.67%)
MR-HD-DHA	1 (16.67%)	5 (83.33%)	2 (33.33%)	4 (66.67%)	4 (57.14%)	3 (42.86%)	3 (42.86%)	4 (57.14%)			4 (66.67%)	2 (33.33%)
CM-LD-DHA	3 (50%)	3 (50%)	4 (66.67%)	2 (33.33%)	2 (33.33%)	4 (66.67%)	2 (33.33%)	4 (66.67%)	4 (66.67%)	2 (33.33%)		

For n = 6, 7, and 8, the difference between samples was significant if the number of correct answers was 5, 5, and 6, respectively (P < 0.05).

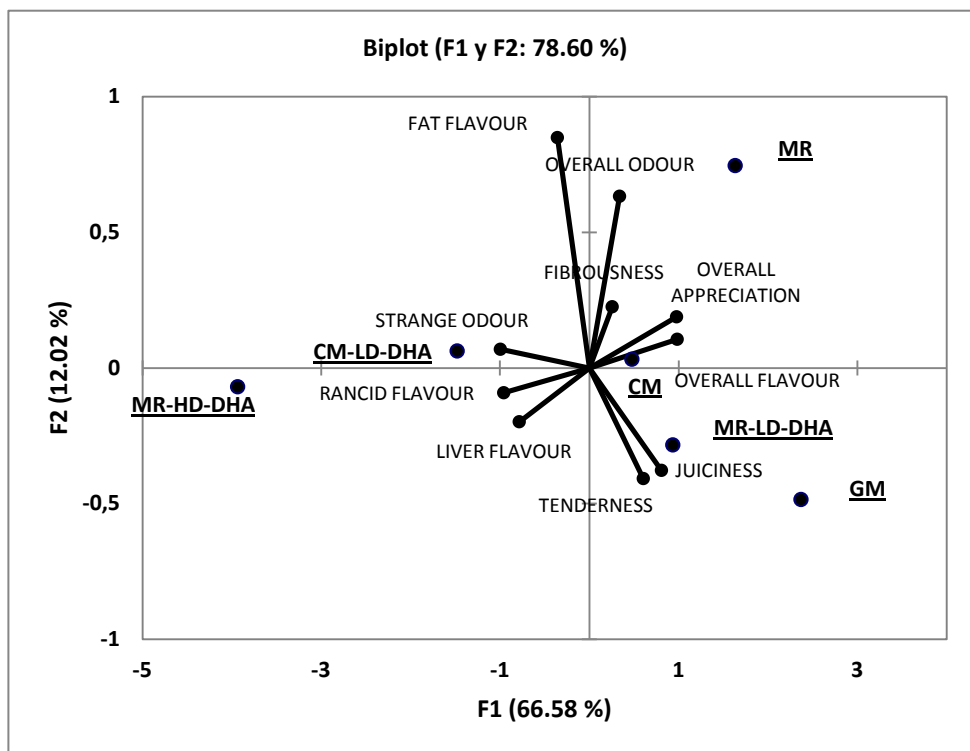
GM: goat’s milk; CM: cow’s milk; MR: commercial milk replacer; MR-LD-DHA: MR supplemented with a low dose of DHA; MR-HD-DHA:

MR supplemented with a high dose of DHA; CM-LD-DHA: CM supplemented with a high dose of DHA.

**Fig. 1.** Consensus configuration: representation of correlations between sensory traits, diets, and the top two components of the consensus variation.

F1: First principal component of generalised Procrustes analysis (GPA); F2: Second principal component of the GPA.

GM: goat's milk; CM: cow's milk; MR: commercial milk replacer; MR-LD-DHA: MR supplemented with a low dose of DHA; MR-HD-DHA: MR supplemented with a high dose of DHA; CM-LD-DHA: CM supplemented with a high dose of DHA.



### 12. Conclusiones

- La composición del lactosuero depende en gran medida de la procedencia, siendo, atendiendo a su composición, un subproducto altamente interesante en la nutrición de rumiantes lactantes.
- Los eritrocitos de oveja no pueden ser utilizados en las pruebas hemolíticas para medir la actividad del sistema de complemento, encontrando en los eritrocitos de humano una buena opción. Además, si estos eritrocitos de humano se sensibilizan con anticuerpos de conejo, aumenta la sensibilidad del ensayo. El buffer DGHB++ es una buena alternativa para medir la actividad del sistema de complemento en aquellos lugares donde el buffer DGVB++ no esté disponible. Si bien, el almacenamiento de células en este medio no se recomienda.
- Las proteínas mayoritarias factor H, C3 y C1q del sistema de complemento de la cabra, son muy similares a las de humano, indicando que el sistema de complemento caprino funciona de una manera similar. Si bien, la ruta alternativa del sistema de complemento caprino, es muy potente.
- La suplementación de la dieta del cabrito con DHA, no produce una mejora en el crecimiento, conformación, calidad de la canal o de la carne, así como el estado inmune del animal de los cabritos, si bien mejora el perfil de ácidos grasos de las carnes en relación a su concentración, aumentando la cantidad de DHA y mejorando el ratio omega-6/omega-3. Alta concentración de DHA en la dieta, es percibida por los consumidores como carnes con olores extraños, sabores rancios y a hígado.

## **Conclusiones**

- El uso de leche de vaca entera en polvo como lactorreemplazante es una buena opción, obteniendo unos resultados en cuanto a crecimiento y calidad de la canal y de la carne muy semejantes a los de leche de cabra.



### 13. Conclusions

- Cheese whey composition depends heavily on its origin. Cheese whey is an interesting sub-product in the nutrition of unweaned ruminants in response to its composition.
- Sheep erythrocytes cannot be used to measure the complement system activity, however human erythrocytes are a good option. Human erythrocytes sensitized with rabbit antibodies increase the assay sensitivity. DGHB++ buffer is a good alternative to measure the complement system activity where DGVB++ buffer is not available. However, the storage of cells in this media is not recommended.
- The major complement system proteins factor H, C3 and C1q of the goat are very similar to the human ones, showing that the goat complement system works in a similar way. Moreover, the alternative pathway of the goat complement system is very active.
- The supplementation of the goat kid diet with DHA does not produce any improvement in growth, conformation, or carcass and meat quality, as well as the immune status of the goat kids, although the meat fatty acids profile was improved in relation to its concentration, increasing the DHA amount and improving the omega-6/omega-3 ratio. A high DHA concentration in the diet is noticed by the consumer as meats with strange odours and rancid and liver flavours.
- The use of powdered cow's milk as a milk replacer is a good option, obtaining results very similar to the goat's milk in relation to the growth and the carcass and meat qualities.